

THESIS

AMSTERDAM

1946

BIJDRAGE TOT HET ONDERZOEK VAN
ATROPA BELLADONNA

DOOR



N. J. A. GROEN

LANE MEDICAL LIBRA .
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305



UITGEVERIJ H. J. PARIS

—

AMSTERDAM



Digitized by the Internet Archive
in 2026

BIJDRAGE TOT HET ONDERZOEK VAN
ATROPA BELLADONNA

BIJDRAGE TOT HET ONDERZOEK VAN ATROPA BELLADONNA

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM,
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
Dr M. W. WOERDEMAN, HOOGLEERAAR IN
DE FACULTEIT, DER GENEESKUNDE, IN
HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE
AULA DER UNIVERSITEIT OP WOENSDAG
27 MAART 1946, DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

NICOLAAS JAN ALEXANDER GROEN
APOTHEKER
GEBOREN TE ZAANDAM

AMSTERDAM
UITGEVERIJ H. J. PARIS
MCMXLVI

ve

729638

AAN MIJN OUDERS

INHOUD

INLEIDING	1
I – DE VERSPREIDING VAN ATROPA BELLADONNA EN DE HERKOMST VAN DE ONDERZOCHE MONSTERS	3
II – DE IN ATROPA BELLADONNA VOORKOMENDE ALKA- LOIDEN	10
III – HET ONDERZOEK VAN ATROPA BELLADONNA	18
IV – DE GOUDDUBBELZOUTEN DER ALKALOIDEN	22
V – HET SPECTROGRAFISCH ONDERZOEK DER ALKALOIDEN.	27
VI – DE ANALYSEMETHODE VOLGENS KUHN EN SCHÄFER.	33
1 – Voorschrift van de bepaling	33
2 – Kritiek op de bepaling.	35
3 – Conclusies.	40
VII – DE ANALYSEMETHODE VOLGENS KÜSSNER	42
1 – Voorschrift van de bepaling	42
2 – Kritiek op de bepaling.	44
<i>a</i> – De extractie der alkaloiden.	44
<i>b</i> – De bepaling van apoatropine.	47
<i>c</i> – De bepaling van belladonnine.	51
<i>d</i> – De bepaling van scopolamine.	56
3 – Aanvullingen op de bepaling in verband met analyses van plantenmateriaal	69
<i>a</i> – De bepaling van de optisch actieve alkaloiden	69
<i>b</i> – De titratie der alkaloiden.	72
<i>c</i> – De vluchtige basen bij het quantitatief onder- zoek	74
<i>d</i> – Slotopmerkingen.	80
4 – Conclusies.	82

VIII - EIGEN ANALYSEMETHODE	84
1 - Voorschrift van de bepaling	84
2 - Voorbeeld van een analyse van Radix Belladonnae	87
3 - Het onderzoek van Folia Belladonnae	91
IX - DE RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK	93
SAMENVATTING	97
SUMMARY	101

Groote Mafage, oft Dullebezie.



Atropa Belladonna
(R. Dodonaeus — „Cruydt-Boeck” — Leiden 1618)

INLEIDING

O! mickle is the powerful grace that lies
In herbs, plants, stones, and their true qualities:
‡ For nought so vile that on the earth doth live
But to the earth some special good doth give.

SHAKESPEARE

Uitgangspunt bij het bewerken van dit proefschrift was de prijsvraag, die de Faculteit der Wis- en Natuurkunde van de Universiteit van Amsterdam op 15 September 1938 uitschreef, welke prijsvraag als volgt luidde:

„De Faculteit verlangt een onderzoek naar de hoeveelheid
„en de onderlinge verhouding der in de verschillende deelen
„van *Atropa Belladonna*, in verband met groeiplaats en
„oogsttijd, voorkomende alkaloiden; verder naar de wijze,
„waarop deze alkaloiden in de uit *Atropa Belladonna* bereide
„praeparaten overgaan; tenslotte, voor zoover het gestelde
„tijdsbestek toelaat, naar de bestendigheid der eigenschappen
„der bedoelde grondstoffen en praeparaten”.

Aanleiding tot het opstellen van deze prijsvraag vormde de nieuwe behandelingswijze van de Parkinson'sche ziekte met de zgn. Bulgaarsche Belladonnakuur. Bij deze behandelingswijze, die haar naam te danken heeft aan het land, waar zij voor het eerst — en met succes — werd toegepast, meende men aanvankelijk dat, wat betreft hun therapeutische waarde, aan praeparaten, bereid uit den in Bulgarije voorkomenden *Radix Belladonnae*, verre de voorkeur moest worden geschonken boven praeparaten, die gemaakt waren uit wortels van elders gegroeide planten. Dit standpunt is nu verlaten en ook het oorspronkelijk gegeven vineuze aftreksel ¹⁾ heeft plaats moeten maken voor meer rationeele bereidingsvormen uit den Belladonnawortel. Gebleven is echter de overtuiging, dat met praeparaten, waarin de werkzame bestanddeelen in dezelfde onderlinge verhouding aanwezig zijn als in de plant in zijn natuurlijken toestand, de Parkinson'sche ziekte doel-

1) P. KUIPER en P. VAN DER WIELEN, Pharm. Weekbl. **74**, 1546 (1937).
J. C. BROEKEMA, Ned. Tijdschr. Geneesk. **82**, 3323 (1938).

matiger kan worden bestreden dan met het vroeger toegediende atropine, hyoscyamine of scopolamine afzonderlijk.

Een antwoord op de vraag, hoe deze verhouding tusschen de verschillende tropa-alkaloiden, die in wortels en bladen van *Atropa Belladonna* naast elkaar voorkomen, is, alsmede eenig vergelijkingsmateriaal betreffende den invloed van de groeiplaats der plant op deze verhouding, vormen het voornaamste resultaat van dit onderzoek.

Om tot dit resultaat te kunnen geraken, dienden nieuwe quantitatieve bepalingswijzen van de verschillende *Belladonna*-alkaloiden te worden gevonden. Gedeeltelijk kon daarbij worden volstaan met varianten, verbeteringen en aanvullingen op reeds bestaande methoden — die zonder meer geen van alle bruikbaar bleken te zijn —, ten deele moest ook, om bevredigende resultaten te kunnen krijgen, naar geheel andere werkwijzen worden gezocht. Nam het uitwerken van deze bepalingsmethoden zooveel tijd in beslag, dat destijds aan insturen van een antwoord op de prijsvraag op den daarvoor vastgestelden datum niet kon worden gedacht, bij de bewerking van deze dissertatie is vóór alles dit analytische gedeelte van het onderzoek tot oplossing gebracht.

HOOFDSTUK I

DE VERSPREIDING VAN ATROPA BELLADONNA EN DE HERKOMST VAN DE ONDERZOCHE MONSTERS

In het wild komt *Atropa Belladonna* in het geheele bergland van Europa zeer algemeen en in groote hoeveelheden voor. Het groeigebied, dat zich door den Kaukasus, Klein-Azië en Perzië voortzet tot in het Himalaya-gebergte, wordt in het Zuiden begrensd door Noord-Afrika, waar nog weinig *Belladonna* schijnt te groeien (Egypte), terwijl dit gebied naar het Noorden door de Oostzee wordt afgesloten. De plant, die in Zwitserland tot een hoogte van 3000 meter boven den zeespiegel wordt aangetroffen, groeit bij voorkeur in boschrijke streken, naar algemeene opinie vooral op kalkhoudenden grond, terwijl volgens anderen ¹⁾ de aanwezigheid van den rooden beuk, *Fagus sylvatica*, de voornaamste conditie voor een gunstige ontwikkeling zou vormen.

Atropa Belladonna laat zich uitstekend cultiveeren en wordt dan ook in verschillende landen, waar de plant in het wild niet voorkomt, met succes gekweekt. Talloos ook zijn de cultuurproeven, met *Atropa* verricht; deze mogen hier echter onbesproken blijven.

Wat betreft de verspreiding van de *Belladonna* over Europa ²⁾ en de groeiplaats van de voor het onderzoek gebruikte monsters, kan het volgende worden opgemerkt (zie kaartje op pag. 4).

In *Nederland* wordt *Atropa* in het wild slechts sporadisch (Z. Limburg) aangetroffen en hetzelfde kan worden gezegd van België. De onderzochte Nederlandsche monsters waren dan ook alle afkomstig van verschillende geneeskruidentuinen, te weten uit Noordwijk (wortels no. 1 en bladen nos. 20 en 21), Den Dolder (wortels no. 2), Buitenpost (bladen nos. 22 en 23) en den Hortus botanicus van Amsterdam. Jammer genoeg mislukten de analyses van de bladen uit den Hortus, evenals die van de bladen uit Den

1) B. PATER, Heil und Gewürzpflanze, 13, 72 (1930/31).

2) TSCHIRCH, Handbuch der Pharmakognosie.

Heil u. Gewürzpflanze.



Overzicht van de vindplaatsen van Atropa Belladonna.

Dolder en ontbrak de gelegenheid, de analyses te herhalen.

In de grootste Belgische geneeskruidentuinen, die te Flobecq (Henegouwen), werd de laatste jaren geen Belladonna meer gekweekt; elders in België is de plant, naar mij werd medegedeeld, hoogstens in geringe hoeveelheden te vinden.

Ook *Engeland* behoort niet tot de landen, waar Belladonna veelvuldig in het wild voorkomt. Er zijn daar echter tamelijk veel kwekerijen, vnl. in de graafschappen Kent (Dartford), Hertford (Hitchin), West-Suffolk (Long Melford) en Bedford (Dunstable). Twee monsters Engelse bladen (nos. 24 en 25) werden onderzocht.

Schotland en Ierland zijn van geen beteekenis voor de Belladonna-cultuur.

Voor de Scandinavische landen geldt hetzelfde als voor Schotland en Ierland; in Denemarken (Odense), eveneens in het Zuiden van Zweden en zelfs in Noorwegen, wordt melding gemaakt van kleine cultures, terwijl in Finland (Sibbo) en van de Baltische landen in Estland (Dorpat) begonnen werd met het aanleggen van Belladonna-cultures.

In *Frankrijk*, op het Centraal Plateau, in de Fransche Alpen (Grenoble) en meer naar het noorden in de Fransche Jura (Pontarlier), groeit *Atropa Belladonna* in zoo rijke mate in het wild, dat deze streken zelfs kunnen exporteerden. Een monster *Radix* (no. 4) en een monster *Folia* (no. 27), beide betrokken van een firma te Lyon, waren van het „Massif central” afkomstig. Cultures worden in Anjou en in de omstreken van Milly aangetroffen. Uit Milly werden een monster wortels (no. 3) en een bladmonster (no. 26) ter onderzoek ontvangen.

Daarentegen kon uit Spanje, waar tamelijk veel Belladonna verzameld wordt in de Pyreneeën, het Centraalgebergte en de Sierra Nevada, niets worden verkregen.

Uit *Italië*, dat evenals Spanje Belladonna exporteert, kwamen vier soorten wortels (nos. 5, 6, 7 en 8), van welke de plaats van herkomst niet nader was aangegeven. Groeit *Atropa* door geheel Italië in het wild (als centra van inzameling worden Sardinië en Florence genoemd), sinds de „Bulgaarsche kuur” werden overal cultures aangelegd.

In Zwitserland wordt de plant, vooral in de Neuenburger en

Solothurner Jura, alleen voor inlandsch gebruik verzameld; daarnaast wordt het in kruidentuinen (Tessino, Jura) vrij veel gekweekt. Het gelukte niet, Zwitsersche Belladonna voor het onderzoek te verkrijgen.

Wat *Duitschland* betreft vindt men de plant in het geheele Midden- en Zuidduitsche bergland. Het stroomgebied van de Saale vormt, met de Harz, de belangrijkste vindplaats en hier is de Belladonna, naast *Digitalis*, de voornaamste „Sammeldroge”. Toch worden elders nog eenige duizenden hectares door cultures in beslag genomen. Uit het Noordelijk deel van de Harz werden een monster *Folia* (no. 28) en een monster *Radix* (no. 9) onderzocht. Van een tweede Duitsche bladsoort (no. 29) was de groeiplaats niet nader aangeduid.

De voornaamste vindplaatsen in *Tsjechoslowakije* en *Polen* sluiten bij elkaar aan in de Karpaten, waarvan het Tatra-gebergte en Roemenië de streken vormen, waarin de Belladonna het meest wordt aangetroffen. Munkacs is een centrum, van waar veel wordt uitgevoerd. Uit *Tsjechoslowakije* werden een blad- (no. 30) en een wortelsoort (no. 10) ontvangen; uit *Polen* werd één monster *Radix Belladonnae* (no. 11) onderzocht.

In Oostenrijk wordt betrekkelijk weinig Belladonna ingezameld en dan nog slechts voor gebruik van het land zelf.

Veel belangrijker is de plant voor *Hongarije*, *Roemenië* en *Joegoslavië*, de voornaamste uitvoerlanden van Belladonna: in 1928 exporteerde Joegoslavië ruim 53.000 kg. *Folia Bell.* en ruim 41.000 kg. *Radix Bell.*; Roemenië voerde jaarlijks meer dan 10 wagons, d.i. 30.000 kg., Belladonna uit. In het geheele berggebied van de beide laatste landen groeit de plant in zulke groote hoeveelheden, dat het aanleggen van cultures de moeite niet loont, evenals dat trouwens voor Hongarije en Tsjechoslowakije het geval is.

Uit de omstreken van Miskolcz, welke plaats voor Hongarije het middelpunt van de inzameling is, werd een bladsoort ontvangen, maar de toegezonden hoeveelheid was voor het onderzoek niet toereikend.

Uit Roemenië werden een monster *Radix* (no. 12) en een monster *Folia* (no. 31) ontvangen. De groeiplaats van het wortelmonster is op het kaartje met een kruisje aangeduid; de bladen waren afkomstig uit het Roetheensche gebied (Maramaros).

Uit Joegoslavië werden uitsluitend wortels (nos. 13 en 14) onderzocht en hetzelfde geldt voor *Bulgarije* (nos. 15, 16, 17 en 18); van al deze wortels kon de plaats van herkomst niet nader worden gepreciseerd. „De” Bulgaarsche *Radix Belladonnae*, waarmee de „Bulgaarsche kuur” zoo'n opgang maakte, kwam uit den kruidentuin van het klooster bij het plaatsje Čipka ¹⁾.

Over de verspreiding van *Belladonna* in Griekenland werden geen mededeelingen aangetroffen.

In *Rusland* groeit de plant in de Zuidelijke Oekraïne en in de Krim, alsook in den geheelen Kaukasus in het wild; daarnaast komen op verschillende plaatsen cultures voor ²⁾. Rusland exporteert vnl. *Folia Belladonnae*, waarvan twee soorten, met een niet nader aangegeven groeiplaats, werden onderzocht (nos. 32 en 33).

Er kon een monster Amerikaansche *Belladonnawortel* (no. 19), afkomstig van de Brooklyn botanic garden, in het onderzoek worden betrokken.

Opmerkingen

De monsters uit de verschillende landen werden, behoudens een enkele uitzondering, in gedroogden toestand gestuurd. Na ontvangst werden zoowel de bladen als de wortels in een kruisslagmolen tot poeder (B_{50}) gemalen en voor het onderzoek grootendeels in flesschen met ingeslepen stop, voor de rest in goed sluitende blikken bussen, van het licht afgesloten, bewaard.

Het uiterlijk van de ongemalen simplicia was zeer verschillend. Van de bladen hadden sommige monsters hun frischgroene kleur behouden, andere waren grauwer en meer bruin gekleurd; van de laatste was het aroma ook veel slechter dan van de eerste. Waarschijnlijk was deze ongelijkheid voor een belangrijk deel terug te brengen tot een verschillende wijze van behandelen na de inzameling, waarbij speciaal aan de manier van drogen en bewaren wordt gedacht. Bij de wortels waren soortgelijke verschillen te constateeren en viel het bovendien op, dat de diverse monsters ongelijk van dikte waren, dus dat de ouderdom uiteen moest loopen. De jonge wortels waren in het algemeen lichter van kleur en gaver van uiterlijk dan de oudere, waarvan sommige erg ver-

1) P. KUIPER en P. VAN DER WIELEN, *Pharm. Weekbl.* **74**, 1546 (1937).

2) N. ADOLF, *Heil u. Gewürzpfl.*, **12**, 23 (1929/30).

schrompeld en min of meer uitgehold waren, een enkele zelfs sterk aangevreten bleek te zijn. Daar het meerendeel der monsters niet rechtstreeks werd verkregen, maar door middel van één of meerdere handelaren, die doorgaans niet de juiste plaats, maar hoogstens het land van herkomst konden aangeven, was het slechts een enkele maal mogelijk, nadere gegevens te verkrijgen omtrent de wijze van drogen en den ouderdom van het onderzochte materiaal. Wel geven de nieuwere pharmacopeeën voor beide richtlijnen aan: het drogen mag bij een niet te hooge temperatuur geschieden, terwijl meest twee- tot driejarige wortels worden geëischt, maar in de verschillende pharmacopeeën bestaat op deze punten geen eenstemmigheid en dan nog blijft het de vraag, in hoeverre bij de onderzochte monsters met deze eischen rekening gehouden was. Het uiterlijk ervan bevestigde het vermoeden, dat dit niet steeds het geval was geweest.

De bloeiperiode der plant of de tijd onmiddellijk daaraanvolgend wordt door de meeste pharmacopeeën als de meest gunstige beschouwd voor het oogsten der bladeren¹⁾. Daarna daalt het alkaloidengehalte en in verband hiermee was het van belang, de juiste oogsttijd van de verschillende onderzochte monsters te weten. Maar in de meeste gevallen werd ook deze niet opgegeven.

Volledigheidshalve zij hier vermeld, dat het, om de prijsvraag (pag. 1) volledig te kunnen beantwoorden, oorspronkelijk in de bedoeling lag, behalve den invloed van de groeiplaats, ook den invloed van den oogsttijd op het alkaloidengehalte na te gaan. In een kweekrij hier te lande had dit op twee verschillende wijzen zullen geschieden n.l. aan de daar aanwezige meerderjarige planten en aan jonge plantjes gedurende een geheele vegetatieperiode. Van de oudere ging echter, ten gevolge van de vorst, het meerendeel tijdens den winter (1938.39) te gronde, terwijl van de uitzaai in het voorjaar (1939), hoewel op drie verschillende tijden was gezaaid, het grootste deel niet opkwam. Het was in de volgende jaren niet mogelijk, de proeven in deze richting te herhalen.

Bij geen der uit het buitenland verkregen *Folia* en *Radices* werd vermeld of deze in het wild waren ingezameld of dat we met gekweekte soorten te doen hadden. Uit het overzicht van de ver-

1) A. KUHN en G. SCHÄFER, Ph. Z. H., **80**, 151, 163 (1939).

spreiding van de Belladonna kon echter met vrij groote zekerheid worden afgeleid dat, met uitzondering van de Nederlandsche monsters, de Engelsche bladen en de uit Milly afkomstige soorten, het eerste steeds het geval was.

Nog aan een ander punt, n.l. aan de vraag, in hoeverre de onderzochte monsters inderdaad bladen en wortels van *Atropa Belladonna* L. waren, werd bij het onderzoek geen aandacht besteed. De moeilijkheid is nl., dat er in de botanie, naast *Atropa Belladonna*, wel gesproken wordt over andere *Atropasoorten* (*A. baetica*, *A. caucasica*) en variëteiten, van welke de gele, met verschillende intermediaire variëteiten, het meest bekend is, maar dat er in het algemeen weinig verschilpunten naar voren gebracht kunnen worden. Ook wat betreft het alkaloidengehalte, dat bij de gele variëteiten hooger zou zijn dan bij de „gewone” *Atropa*, zijn geen duidelijke verschillen geconstateerd.

Resumeerende kan worden opgemerkt, dat er, bij het onderzoek betreffende het alkaloidengehalte naar gelang van de groeiplaats, verschillende factoren zijn, die, wellicht meer nog dan klimaat en bodemgesteldheid van de plaats van herkomst, de uitkomsten van het chemisch onderzoek bepalen, zoodat hier van een vergelijkend onderzoek naar den invloed van de groeiplaats op het alkaloidengehalte, zooals in de bedoeling lag van de in de Inleiding gememoreerde prijsvraag, eigenlijk geen sprake kon zijn. Van een meer practischen kant bekeken, kon het geheele probleem dan ook beter zoo worden gesteld: er komt in den handel een aantal soorten *Radix* en *Folia Belladonnae*, in verschillende landen gegroeid en op verschillende manieren verwerkt; zijn er, wat betreft het gehalte aan alkaloiden, tusschen deze soorten verschillen te constateeren en zoo ja, waaruit bestaan die verschillen.

De resultaten van dit onderzoek zijn verwerkt in hoofdstuk IX, maar alvorens tot de bespreking hiervan over te gaan, worden eerst de alkaloiden afzonderlijk aan een beschouwing onderworpen en wordt vervolgens het analytisch gedeelte van het onderzoek behandeld.

HOOFDSTUK II

DE IN ATROPA BELLADONNA VOORKOMENDE ALKALOIDEN ¹⁾

De tropa-alkaloiden zijn chemisch nauwverwante, gedeeltelijk stereoisomere stoffen, die gemakkelijk in elkaar zijn over te voeren en waartusschen het verband als volgt kan worden weergegeven.

Atropine is het racemisch mengsel van de tropine-esters van *d*- en *l*-tropazuur ²⁾; de linksdraaiende component wordt hyoscyamine genocmd. Door verwarming boven het smeltpunt ³⁾ gaat hyoscyamine in het optisch inactieve atropine over, terwijl ook in de koude, door aan de alcoholische of waterige oplossing weinig loog toe te voegen, racemisatie plaats vindt ⁴⁾. Volgens een enkele publicatie zou dit bij lang staan, zonder toevoeging van alkali, eveneens gebeuren ⁵⁾ (vgl. pag. 39—40).

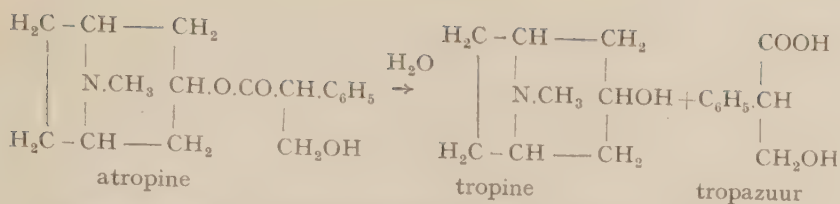
Bij verdere verhitting van atropine en hyoscyamine vormt zich onder waterafsplitsing apoatropine, dat bij 120—130° overgaat in een harsachtige, amorphe massa, waaraan men den naam „belladonnine” heeft gegeven ⁶⁾. De beide laatste verbindingen zijn optisch inactief.

Scopolamine is de ester van scopoline en *l*-tropazuur en, evenals hyoscyamine, linksdraaiend.

1 — *Atropine* (C₁₇H₂₃O₃N = 289). Synoniem: daturine.

Atropine wordt bij hydrolyse gesplitst volgens:

-
- 1) BEILSTEIN, Handbuch der organischen Chemie, Bd. XXI (1935).
G. KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. IV/1, dl. III, 527 (1933).
P. LEBEAU en G. COURTOIS, Traité de Pharmacie Chimique, T. II, 1296 (1938).
 - 2) J. GADAMER, Arch. Pharm. **239**, 294 (1901).
 - 3) Bij 110—120°, WILL, Ber., **21**, 1723 (1888).
E. SCHMIDT, Arch. Pharm. **226**, 618 (1888).
 - 4) WILL, Ber. **21**, 1777, 2777 (1888).
J. GADAMER, Arch. Pharm. **234**, 543 (1896).
A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. **53**, 405 (1938).
 - 5) O. HESSE, Lieb. An. **309**, 75 (1899).
 - 6) O. HESSE, Lieb. An., **277**, 295 (1893).



Atropine werd in 1833 in den wortel van *Datura Stramonium* ontdekt¹⁾ en in hetzelfde jaar ook in *Radix Belladonnae* gevonden²⁾. Het gelukte aan WILLSTÄTTER³⁾ dit alkaloïde te synthetiseeren en de structuurformule op te stellen.

Werd atropine langen tijd ten onrechte beschouwd als het voornameste alkaloïde van *Atropa Belladonna*, nu wordt het zelfs betwijfeld, of de stof in de levende plant wel voorkomt. KUHN en SCHÄFER⁴⁾ meenen dat atropine, zij het in kleine hoeveelheden, inderdaad in de *Belladonna* is aan te toonen, terwijl KLEIN en SONNLEITNER⁵⁾ beweren, dit zelfs te hebben bewezen. Anderen⁶⁾ laten de vraag over het al of niet natief voorkomen onbeantwoord, maar volgens STOLL⁷⁾, autoriteit op het gebied van biochemische analyses, ontstaat atropine steeds secundair uit hyoscyamine onder invloed van verschillende enzymatische processen, zooals die b.v. tijdens het drogen van de plant plaats vinden.

Ook apoatropine en belladonnine zouden op deze wijze worden gevormd.

2 - *Hyoscyamine* ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N} = 289$). Synoniem: duboisine.

Deze stof werd tegelijk met atropine, eveneens in *Datura Stramonium*, ontdekt⁸⁾, maar pas veel later ook in *Atropa Belladonna* gevonden. Het is het hoofdalkaloïde van de wolfskers en wordt in alle plantendeelen aangetroffen⁹⁾.

1) MEIN, Lieb. An. **6**, 67 (1833).

2) GEIGER en HESSE, Ibid. **7**, 272 (1833).

3) WILLSTÄTTER, Ibid. **317**, 204, 267, 307 (1901); **326**, 23 (1903).

4) A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. **53**, 424 (1938).

5) G. KLEIN en H. SONNLEITNER, Oesterr. Botan. Zeits. **78**, 9 (1929).

6) Th. WEEVERS, Die Pflanzenalkaloïde, phytochemisch und physiologisch betrachtet, 381 (1933).

7) A. STOLL, Ein Gang durch biochemische Forschungsarbeiten, Berlin, Verl. Springer, 1933, 22.

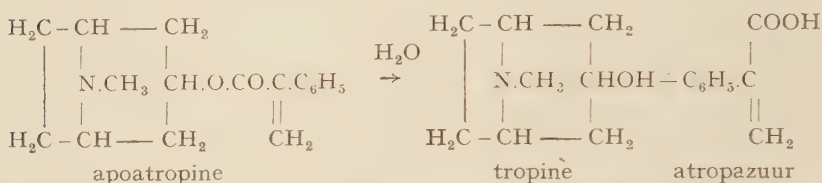
8) GEIGER en HESSE, Lieb. An. **5**, 43 (1833).

9) J. GADAMER, Arch. Pharm. **243**, 306 (1905).

Hyoscyamine heeft kwalitatief een zelfde physiologische werking als atropine; quantitatief is de activiteit van hyoscyamine echter ongeveer dubbel zoo groot ¹⁾, terwijl de werking van de rechts-draaiende component van atropine, het *d*-hyoscyamine, dat wel uit atropine kan worden bereid ²⁾, maar dat niet in de natuur wordt aangetroffen, veel minder sterk is dan die van het *l*-hyoscyamine ³⁾.

3 - *Apoatropine* ($C_{17}H_{21}O_2N = 271$). Synoniemen: atropamine, atrogamine.

Apoatropine is de atropazure tropine-ester:



Door HESSE ⁴⁾ werd in 1891 uit *Radix Belladonnae* een nieuw alkaloïde geïsoleerd, het atropamine. Het volgend jaar bereidden zoowel HESSE ⁵⁾ als PESCI ⁶⁾ uit atropine, door verwarming en door middel van wateronttrekkende middelen, een nieuwe stof, die apoatropine werd genoemd. Weer een jaar later werd deze laatste verbinding door HESSE ⁷⁾ identiek bevonden met zijn in 1891 ontdekte atropamine.

Apoatropine gaat door voor een sterk giftige stof. De Nederlandsche Pharmacopee Ed. V. reageert, bij het onderzoek van *Sulfas Atropini*, op dit alkaloïde met ammonia; andere pharmacopeeën reageeren met kaliumpermanganaat op de dubbele binding, die ook twee atomen bromium kan addeeren.

1) CUSHNY, J. *Physiol.* **30**, 176 (1904).

TH. EXLER, *Diss.* Leiden (1928), 62.

2) T. AMENOMIYA, *Arch. Pharm.* **240**, 498 (1902).

M. BARRONCLIFF en F. TUSIN, *J. Chem. Soc.* **95**, 1966 (1909).

3) J. D. PILCHER, *J. Pharmacol.* **52**, 196, 206 (1934).

W. F. V. OETTINGEN en F. H. MARSHALL, *Ibid.* **50**, 15 (1934).

4) O. HESSE, *Lieb. An.* **261**, 96, 105 (1891).

5) O. HESSE, *Lieb. An.* **271**, 124 (1892).

6) L. PESCI, *Ber.* **15**, 529 (1892).

7) O. HESSE, *Lieb. An.* **277**, 290 (1893).

4 - *Belladonnine* ($C_{17}H_{21}O_2N = 271$)

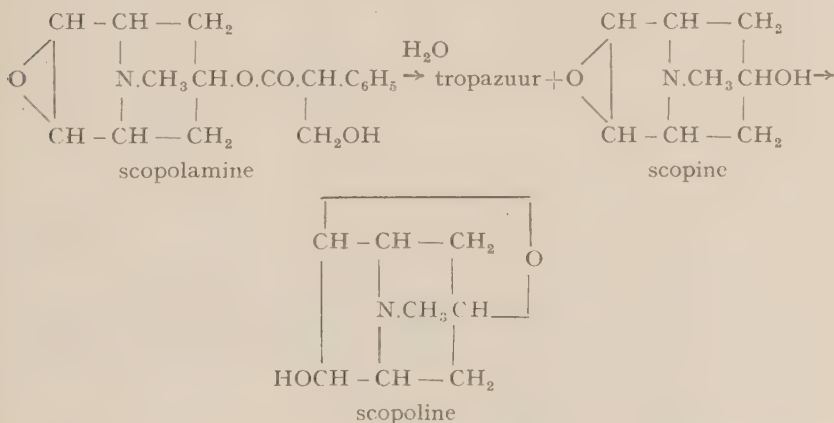
Dit alkaloïde, waarvan de structuurformule niet bekend is, gold tot voor kort als een amorph, weinig gedefinieerd isomeer van apoatropine. HÜBSCHMANN ¹⁾ bereidde het uit ruwe atropine, maar ook aan zijn navolgers ²⁾ gelukte het niet, een gekristalliseerd product in handen te krijgen. Pas eenige jaren terug kon KÜSSNER ³⁾, door om te kristalliseeren uit aethylacetaat, deze stof tot kristallisatie brengen. Ook de samenstelling van het belladonnine, die voordien als $(C_{17}H_{21}O_2N)_x$ werd opgegeven, onderzocht KÜSSNER, waarbij als splitsingsproducten, na hydrolyse in alkalisch milieu, tropine en β isatropazuur (zie pag. 30) werden gevonden.

Belladonnine gedraagt zich tegenover bromium als een verzadigde verbinding.

Tot nu toe werden apoatropine en belladonnine alleen uit Radix Belladonnae en niet uit de bladen geïsoleerd.

5 - *Scopolamine* ($C_{17}H_{21}O_4N = 303$). Synoniem: hyoscine.

Naast tropazuur ontstaat bij verzeeping van scopolamine scopine, dat zich direct in een isomeer, het scopoline, omzet:



Het optisch actieve scopolamine gaat, evenals hyoscyamine,

1) F. HÜBSCHMANN, Schweiz. Z. Pharm. **3**, 123 (1858).

2) O. HESSE, Lieb. An. **261**, 96, 105 (1891).

G. MERLING, Ber. **17**, 381 (1884).

GEHE & Co., Gehe's Drogenbericht, Dresden, April 1872.

3) W. KÜSSNER, Arch. Pharm. **276**, 617 (1938).

gemakkelijk in den racemischen vorm, die „atroschine” wordt genoemd, over¹⁾. De rechtsdraaiende vorm wordt evenmin als *d*-hyoscyamine in de natuur gevonden.

Over het voorkomen van scopolamine in *Atropa Belladonna* loopen de meeningen uiteen. SCHMIDT²⁾ isoleerde dit alkaloïde uit den wortel door het als goudzout te praecipiteeren. KLEIN en SONNLEITNER konden het in geen enkel deel van de plant aantoonen; aan KUHN en SCHÄFER gelukte dit wel, terwijl van de door KÜSSNER onderzochte grondstoffen slechts een paar wortelmonsters scopolamine bleken te bevatten.

De waarden, die deze laatste onderzoekers bij hun analyses vonden, zijn de volgende: (zie tabel op pag. 15).

Naast de bovengenoemde, kristallijne alkaloiden komen in de plant in geringe hoeveelheden nog verschillende minder belangrijke alkaloiden, als meteloidine, nortropine, norpseudotropine, het onlangs ontdekte, in water oplosbare bellaradine³⁾ e.a. voor, naast eenige vluchtige pyridinebasen (zie pag. 74).⁴⁾

Qualitatief worden de alkaloiden onderscheiden⁵⁾ naar hun physische constanten als smeltpunt, smeltpunt van de verschillende zouten, kristalvorm⁶⁾, optische draaiing, oplosbaarheid in verschillende oplosmiddelen, grootheden die, door het ontbreken van daarvoor geschikte, specifieke chemische reacties, ook bij de quantitative bepaling van belang zijn en waarvan het volgende overzicht moge worden gegeven: (zie tabel op pag. 16).

Bij dezen tabel valt nog op te merken, dat over de specifieke draaiing van scopolamine en hyoscyamine in de literatuur weinig eenstemmigheid bestaat. Voor scopolamine wordt b.v. — 33°,1 (HESSE) naast — 28°,0 (GADAMER) opgegeven, terwijl bij beide alkaloiden de α_D -waarden wisselen al naar gelang oplosmiddel en

1) E. SCHMIDT, Arch. Pharm. **236**, 47 (1898).

J. GADAMER, Ibid. **239**, 294 (1901).

2) E. SCHMIDT, Ibid. **230**, 229 (1892).

3) H. KING en L. L. WARE, J. Chem. Soc. **139**, 331 (1941).

4) A. GORIS en A. LARSONNEAU, Bull. Sc. Pharmacol. **28**, 499 (1921)

5) R. EDER, Schweiz. Apoth. Ztg. **54**, 501 e.v. (1916).

6) A. JONESCO-MATIU en E. LIESCO, J. Pharm. Chim. **23**, 120 (1936).

F. AMELINK, Pharm. Weekbl. **75**, 1196 (1938).

M. WAGENAAR, Ibid. **65**, 197, 549, 1226 (1928).

Monster	Land van herkomst	Oogsttijd	Totaal alkal. geh. (Zw. Pharm.)	Percentage van het totaal-alkaloïde				
				hyosc.	atropine	scopol.	apoaotrop.	rest. alkal. 2)
1. Radix Belladonnae	Duitschland (gekweekt, bij hooge temp. ge- droogd)	Nov. '37	0,337	84,9	15,2	2,3		
2. —	Duitschland (gekweekt, bij lage temp. ge- droogd)	Nov. '37	0,311	82,8	14,6	2,6		
3. —	Handelsproduct	?	0,529	95,4	4,6	—		
4. —	Duitschland (wild)	Sept. '37	0,480	95,3	3,4	1,3		
5. —	—	Aug. '37	0,610	92,6	7,4	—		niet bepaald
6. —	(gekweekt)	Jan. '38	0,455	87,5	12,5	—		
7. —	—	Mrt. '37	0,96	92,0	8,0	—		
8. —	Bulgarije	?	0,58	93,6	6,4	—		
9. —	Tsjechoslowakije	?	0,50	96,2	3,8	—		
10. —	Joegoslavië	?	0,55	96,6	3,4	—		
11. Folia Belladonnae	Duitschland (gekweekt)	?	0,489	90,6	9,4	—		

b - KÜSSNER: 2)

Monster	Land van herkomst	Oogsttijd	Totaal alkal. geh.	Percentage van het totaal-alkaloïde				
				hyosc.	atropine	scopol.	apoaotrop.	rest. alkal. 2)
1. Radix Belladonnae	Bulgarije	?	0,40	90	—	1	5	4
2. —	—	?	0,36	83	5	—	5	7
3. —	Duitschland	?	0,69	88	4	—	4	4
4. —	—	?	0,77	90	2	—	4	4
5. —	Italië	?	0,45	77	7	—	8	8
6. —	Indië	?	0,35	67	7	—	11	15
7. Radix Scopoliae	?	?	0,40	69	8	10	6	7

1) A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. 53, 427 (1938); Ph. Z. H. 80, 152 (1939).

2) W. KÜSSNER, E. Merck's Jahresber. 52, 45 (1938); zie ook pag. 42 e.v.

	<i>Hyoscyamine</i>	<i>Atropine</i>	<i>Scopolamine</i>	<i>Atroscine</i>	<i>Apoatropine</i>	<i>Belladonnine</i>
Ontdekt door:	GEIGER en HESSE (1833)	MEIN (1833)	LADENBURG (1880)		PESCI (1882)	HÜBSCH-MANN (1858)
Kristalvorm	naalden (alkohol)	prisma's (ae, chl.) naalden (alkohol)	prisma's (aether)		prisma's (aether)	kubi of ruiten (aethyl-acetaat)
Specifieke draaiing [α] _{20°} D)	-24°,0 (spir.) -25°,0 (chl.) -32°,5 (water)	0°,0	± -30° (water)	0°,0	0°,0	0°,0
Smeltpunt	108°,5	115°,5	59° (mono-hydr.) 82—83° (anhydr.)	56° (mono-hydr.) 37—38° (dihydr.)	60—62°	129°

OPLOSBAARHEID

Aether	1 : 50	1 : 50	++	++	+	++
Aethyl-alkohol	++	--	--	--	-	--+
Benzeen	1 : 130 (koud) ++ (kokend)	1 : 25			++	++
Chloroform	1 : 1	1 : 1,5	++	++	++	++
Petroleum-aether	1 : 1000	1 : 1200			*	—
Tetrachloor-koolstof	1 : 1700	1 : 150	+	+		—
Water	1 : 280 (20°)	1 : 500 (20°) 1 : 50 (100°)	*	*	— (koud) + (heet)	—

SMELTPUNT VAN EENIGE ZOUTEN

Chloro-auraat	163° (smelt niet in kokend water)	138° (smelt in kokend water)	208—209°	208°	110—112°	± 168° (niet scherp) (vgl. pag. 28)
Chloro-platinaat	207—210°	207—208°			212—214°	252°
Hydro-bromide	* 150°	162°	190°	180° (anhydr.)	248° (Beilst.) 230—231° (Abderh.)	
Oxalaat	173—176°	188—190°				
Pikraat	162—163°	175—176°	191—192°	192—194°	166—168°	
Sulfaat	206° (anhydr.)	184° (anhydr.)				

++ gemakkelijk oplosbaar
+ goed oplosbaar

* moeilijk oplosbaar
— niet of slecht oplosbaar

concentratie worden gevarieerd ¹⁾. Ook voor de smeltpunten van de verschillende alkaloidezouten vermeldt de literatuur getallen, die niet steeds met elkaar in overeenstemming zijn.

1) TH. EXLER, Diss. Leiden (1928), 40.

T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934), 44.

A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. **53**, 424 (1938).

HOOFDSTUK III

HET ONDERZOEK VAN ATROPA BELLADONNA

Van de alkaloidhoudende simplicia, die in de Nederlandsche Pharmacopee Ed. V. zijn beschreven, stelt de Pharmacopee bij de meest belangrijke eischen aan het totaal-alkaloidengehalte, welk gehalte voor de therapeutische waarde van den grondstof uiteraard slechts dan een juisten maatstaf vormt, wanneer de bij-alkaloiden van het simplex physiologisch inactief zijn of het totaal-alkaloïde een steeds constante samenstelling bezit. Van enkele simplicia, waarbij dit niet het geval is — Opium, Rhiz. Hydrastis — laat de Pharmacopee het therapeutisch belangrijke alkaloiden — morphine, resp. hydrastine — afzonderlijk bepalen, terwijl we bij andere een dergelijke eisch missen. Bij deze laatste categorie van simplicia — b.v. *Tubera Aconiti* ¹⁾ — verdient het, van pharmacologisch standpunt bezien, aanbeveling, de eischen der Pharmacopee aan te vullen en de vraag doet zich voor, in hoeverre dat ook bij grondstoffen, die tropa-alkaloiden bevatten, het geval is.

Pas in de laatste jaren werd met het onderzoek van de Solanaceeën in deze richting een aanvang gemaakt en wat betreft *Atropa Belladonna*, de pharmaceutisch meest belangrijke vertegenwoordiger der nachtschaden, waren hiervoor twee redenen: in de eerste plaats heeft men, zooals op pag. II al werd opgemerkt, langen tijd in de veronderstelling geleefd, dat in de *Belladonna* bijna uitsluitend atropine voorkwam en dacht men aan het „atropine”-gehalte voldoende houvast te hebben voor de beoordeeling van de werkzaamheid van het simplex; in de tweede plaats beschikte men, na het veranderen van de inzichten hieromtrent, niet direct over een goede analysemethode voor het quantitatief bepalen van de verschillende alkaloiden.

Met betrekking tot dit laatste punt, moge het volgende overzicht van de verschillende bij het *Belladonna*-onderzoek toegepaste analysemethoden worden gegeven.

1) W. A. VAN BRONKHORST, Diss. Leiden (1934).

Hoewel SCHÜTTE ¹⁾ en VAN ITALLIE ²⁾ reeds in 1891 aanneemelijk maakten, dat in *Folia*, resp. *Extractum Belladonnae* niet, zooals tevoren de algemeene opinie luidde, atropine, maar hyoscyamine overwegend voorkomt, werd bijna dertig jaar nadien pas getracht, ook de quantitatieve verhouding der alkaloiden onderling vast te stellen. Deze poging werd ondernomen door twee plantenphysiologen, KLEIN en SONNLEITNER ³⁾, in een studie over het aantoonen van de verschillende alkaloiden en hun splitsingsproducten in een aantal Solanaceeën, welk onderzoek nog verricht werd met behulp van enkele vanouds gebezigde microchemische alkaloidreacties: atropine en hyoscyamine onderscheidden zij door middel van joodwaterstofzuur (s.g. 1,7), terwijl scopolamine met behulp van goudbromide werd geïdentificeerd. Was het, door de naar den kristalvorm van uiterlijk verschillende periodiden te tellen, mogelijk, de verhouding tusschen deze drie alkaloiden bij benadering vast te stellen, voor een waardebepaling openden deze onderzoeken toch geen perspectieven.

Veel meer was dit het geval met de methoden, die POTJEWIJD in zijn dissertatie over *Hyoscyamus muticus* bezigde. POTJEWIJD ⁴⁾ onderwierp de afgescheiden alkaloiden, voor het aantoonen van hyoscyamine, aan een polarimetrisch onderzoek, een werkwijze, die tevoren door EXLER ⁵⁾, bij het onderzoek naar de therapeutische waarde van op verschillende wijzen bereid *Belladonna*-extract, al was toegepast. Nadat het totaal der alkaloiden vervolgens door titratie was vastgesteld, werden de alkaloiden -- ook de vluchtige -- afzonderlijk nog geïdentificeerd door deze uit de getitreerde oplossing met goudchloride in fracties neer te slaan en de smeltpunten van de chloroauraten te bepalen. Over deze smeltpuntsmethode, die door EXLER eveneens op bruikbaarheid was getoetst en waarmee ook zoowel SCHÜTTE als VAN ITALLIE hun

1) W. SCHÜTTE, Arch. Pharm. **229**, 492 (1891).

2) L. v. ITALLIE, Ned. Tijdschr. Pharm., Chem. en Tox. **4**, 1 (1892).

3) G. KLEIN en H. SONNLEITNER, Oesterr. Botan. Zeits. **78**, 9 (1929).
Voor een uitgebreid overzicht van de plantenphysiologische onderzoeken der Solanaceeën, zie T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934), 17.

4) T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934).

5) TH. EXLER, Diss. Leiden (1928).

hyoscyamine in Folia en Extractum Belladonnae aantoonen, zie verder pag. 22.

KUIPER en VAN DER WIELEN¹⁾ waren de eersten, die het polarimetrisch onderzoek bij de analyse van Radix Belladonnae als basis voor een waardebepaling trachtten in te voeren. Het totaal-alkaloidengehalte werd door hen bepaald volgens de Zwitsersche Pharmacopee, waarna van de getitreerde oplossing het polari-seerend vermogen werd gemeten. Daar echter de draaiing niet alleen door hyoscyamine, maar ook door scopolamine kon zijn veroorzaakt, was het hun op deze wijze niet mogelijk, het percentage van de alkaloiden afzonderlijk te berekenen.

KUHN en SCHÄFER²⁾, die eveneens uitgingen van de veronderstelling, dat hyoscyamine, atropine en scopolamine voorhanden waren, modificeerden de methode van KUIPER en VAN DER WIELEN daarom zoo, dat eerst het scopolamine in bicarbonaat-milieu met aether werd uitgeschud, waarna van het overgebleven mengsel van atropine en hyoscyamine door polarisatie en titratie beide componenten konden worden gevonden. SCHMIDT³⁾ had er al vroeger de aandacht op gevestigd, dat scopolamine zich van de sterker alkalische Solanaceeënalkaloiden laat zuiveren door de met bicarbonaat zwak alkalisch gemaakte waterige oplossing met aether uit te schudden. ANDREWS⁴⁾ trachtte, bij een onderzoek over Datura Stramonium, dezelfde scheiding te bewerkstelligen door in een zwak ammoniakaal milieu met aether uit te schudden; deze scheiding verliep echter niet quantitatief.

Tijdens het naverken van de analyse volgens KUHN en SCHÄFER (zie pag. 33 e.v.) werd een meer uitgebreide methode van onderzoek gepubliceerd door KÜSSNER⁵⁾, die, behalve de drie bovengenoemde alkaloiden, ook apoatropine en belladonnine quantitatief bepaalde. Apoatropine liet zich uit de zoutzure oplossing der alkaloiden met chloroform uitschudden en kon bromometrisch worden getitreerd. Van de overige alkaloiden was belladonnine onoplosbaar in warme tetrachloorkoolstof, terwijl uit het filtraat bij staan

1) P. KUIPER en P. VAN DER WIELEN, Pharm. Weekbl. **74**, 1546 (1937).

2) A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. **53**, 405, 424 (1938).

3) E. SCHMIDT, Arch. Pharm. **236**, 52 (1898).

4) A. E. ANDREWS, Proc. Chem. Soc. **27**, 248 (1911).

5) W. KÜSSNER, E. Merck's Jahresbericht 1938, 39.

hyoscyamine en atropine uitkristalliseerden. De juiste verhouding tusschen deze beide werd polarimetrisch gevonden en het scopolamine, dat in de moederloog bleef opgelost, werd als chloroauraat geprecipiteerd (zie pag. 42 e.v.).

Het waren de methode van KUHN en SCHÄFER en die van KÜSSNER, welke bij het onderzoek de meeste aandacht vroegen en die dan oók allereerst werden onderzocht. Daar echter noch de eene, noch de andere methode in haar geheel bevredigende resultaten gaf, was het noodzakelijk, deze bepalingswijzen hier en daar te wijzigen en aan te vullen, waarbij o.a. gebruik kon worden gemaakt van de goud dubbelzouten en van de absorptiespectra der alkaloiden.

Om in de hoofdstukken VI en VII de bespreking van de beide bovengenoemde analysemethoden niet te hoeven onderbreken, worden de resultaten van het onderzoek met betrekking tot de goud dubbelzouten en die van het spectrografisch onderzoek der alkaloiden vooraf vermeld.

HOOFDSTUK IV

DE GOUDDUBBELZOUTEN DER ALKALOIDEN

De door SCHÜTTE en VAN ITALLIE (litt. zie pag. 19) aangegeven mogelijkheid, om de voornaamste Belladonna-alkaloiden naast elkaar aan te toonen, berust op het verschil in smeltpunt der chlorauraten. Door anderen ¹⁾ werden ook pikraten en styphnaten *) tot hetzelfde doel gebruikt, maar de dubbelzouten met goudchloride zijn hiervoor toch het meest geschikt, omdat de smeltpunten der chlorauraten verder uit elkaar liggen, dan bij andere zouten het geval is (zie overzicht pag. 16).

VAN ITALLIE praecipiteerde het alkaloïde, dat uit een bepaalde hoeveelheid Extractum Belladonnae was geïsoleerd, in drie gedeelten en verkreeg door concentratie van de moederloog nog een vierde kristallisaat. Terwijl deze laatste fractie slechts uit enkele, wratvormige kristallen, waarschijnlijk van atropinegoudchloride bestond, lieten de eerste drie fracties zich uit zoutzuurhoudend water tot goudgeel glanzende plaatjes, met smeltpunten van resp. 158°,5, 158°,5 en 156°,5, omkristalliseeren. Waar nu voor hyoscyaminegoudchloride als smeltpunt 158—160° en voor atropinechloroauraat 135—137° werd opgegeven, luidde de conclusie, dat in het onderzochte extract voornamelijk hyoscyamine voorkwam **).

EXLER merkte hierbij op, dat, bij aanwezigheid van meer atropine dan in het onderhavige geval, deze conclusie waarschijnlijk toch niet anders zou zijn geweest. Zijn meening grondde EXLER op het

1) S. A. TAYLOR en F. G. HOBART, Pharm. J. **141**, 49 (1938).

*) Styphninezuur = oxypikrinezuur, $C_6H(NO_2)_3(OH)_2$.

**) Van de op deze en andere plaatsen ter contrôle steeds gebruikte praeparaten van Merck, kristalliseerde van Hyoscyamin puriss. cryst. Merck, sm.p. 108°,5, het goudzout snel uit in goudgele, zijdeglanzende plaatjes, sm.p. 163°. Werd bij de oplossing van Atropin puriss. cryst. Merck, sm.p. 116—116°,5, goudchloride gevoegd, dan ontstond een troebeling, die pas bij staan in kristallijnen vorm overging. Het goudzout was niet glanzend en bestond uit veervormige, veelal tot sterren en wratten verenigde kristallen, sm.p. 138°.

verschil in oplosbaarheid tusschen hyoscyamine- en atropine-chloroauraat; het atropinezout lost n.l. in water bijna tweemaal zoo goed op als de overeenkomstige hyoscyamineverbinding. En inderdaad bleek uit het experiment, waarbij wisselende verhoudingen atropine en hyoscyamine uit een met zoutzuur aangezuurde oplossing met goudchloride werden gepraecipiteerd, dat steeds de eerste fracties vrijwel geheel uit hyoscyaminegoudchloride bestonden en in de derde fractie pas de invloed van het atropine merkbaar werd, terwijl de moederloog telkens bijna zuiver atropinegoudchloride bleek te bevatten.

POTJEWIJD¹⁾ bepaalde de oplosbaarheid van de chloroauraten nog eens nauwkeurig over, herhaalde de proeven van EXLER en maakte eveneens de gevolgtrekking, dat het in een oplossing van hyoscyamine, die tot 50 pCt. atropine bevat, slechts na concentratie der oplossing mogelijk is, atropine door middel van het smeltpunt van het goudzout aan te toonen.

Toch moest het, door zooveel goudchloride toe te voegen, dat alle alkaloïde werd neergeslagen, mogelijk zijn, het verschil in oplosbaarheid te elimineeren en een smeltkromme te construeeren, met behulp waarvan voor elk gevonden smeltpunt de juiste verhouding tusschen beide alkaloiden zou kunnen worden afgelezen.

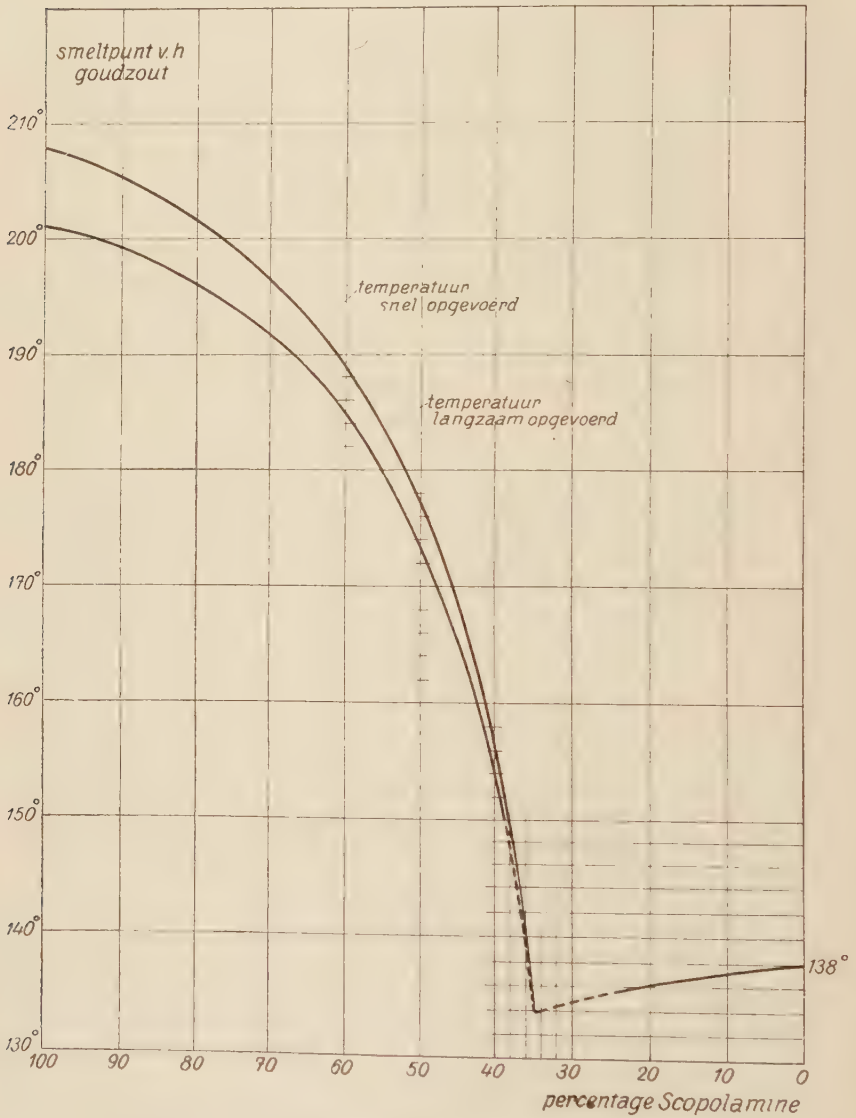
Hoewel dit aanvankelijk wel werd getracht, bleek het uitwerken van deze methode voor atropine en hyoscyamine weinig doel te hebben. Immers, ook al had het goudzoutmengsel een scherp smeltpunt, de nauwkeurigheid, waarmee beide alkaloiden zoo konden worden bepaald, was slechts gering, daar de smeltpunten der chloroauraten te dicht bij elkaar liggen. Met de hoeveelheid alkaloïde, die bij het onderzoek van de wortel- en bladmonsters ter analyse kwam (zie pag. 47), kon polarimetrisch een veel grootere nauwkeurigheid worden bereikt.

Voor de scheiding van atropine en scopolamine bestond, waar scopolamine als regel in minimale hoeveelheden voorhanden is, een dergelijk hulpmiddel niet en om deze scheiding te verwezenlijken, bewees de smeltpuntsmethode goede diensten. Het ver uiteen liggen van de smeltpunten van atropine- en scopolamine-

1) T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934), 43.

chloroauraat vormde daarbij een gelukkige omstandigheid, die de nauwkeurigheid van de scopolaminebepaling slechts ten goede kwam.

Voor het vastleggen van de curve voor atropine en scopolamine



Smeltcurve van atropine- en scopolaminechloroauraat

werd uitgegaan van telkens eenzelfde hoeveelheid alkaloïde, 20 mg., die opgelost werden in 2 cm.³ 0,1 N. zoutzuur, waaraan 1 cm.³ goudchlorideoplossing (1 = 20) werd toegevoegd. Het praecipitaat werd, nadat het goudzout volledig uitgekristalliseerd was, scherp afgezogen, op de manier van EXLER met een paar druppels water nagewasschen en gedurende een uur bij 100° gedroogd. Daarna werd de stof in een capillair gebracht en het smeltpunt volgens de micro-methode bepaald, waarbij gezorgd werd, dat de temperatuur niet sneller dan 1 à 2 graden per minuut opliep. Als smeltpunt werd de temperatuur genomen, waarbij de stof geheel gesmolten was en om dit goed te kunnen waarnemen, werd het bepaald in een paraffinebad. De afwijkingen van de gebruikte thermometer werden gecontroleerd met thermometers volgens ANSCHÜTZ *).

Door steeds het gewicht van het kristallijne product vast te stellen, werd nagegaan, of alle alkaloïde zich inderdaad als chloroauraat had afgescheiden. Voor atropine bleek dit, vooral wanneer relatief weinig van dit alkaloïde aanwezig was, pas na langen tijd staan het geval te zijn. Als regel was een kristallisatie-tijd van 48 uur voldoende (zie ook pag. 67), maar een enkele maal was zelfs deze nog te kort, waardoor zich de resultaten van de proeven van EXLER c.s. mede lieten verklaren.

Voor atropine-scopolamine kon de curve, welke op de voorgaande bladzijde is afgebeeld, worden geconstrueerd.

Uit de grafiek blijkt, dat voor mengsels, die tusschen ± 35 en ± 80 pCt. scopolamine bevatten, de samenstelling tot op enkele procenten kon worden benaderd, welke nauwkeurigheid voor de analyses van Radix en Folia Belladonnae, waarbij het steeds om milligrammen alkaloïde ging, ruim voldoende was. Bovendien liet scopolamine zich met behulp van deze methode kwalitatief goed aantoonen (zie pag. 68).

Opgemerkt werd, dat het verschil maakte, of de temperatuur

*) Gebruikt werden Atropin Merck en Scopolamin pur. (atrosцин) Merck, waarvan het goudzout hetzelfde smeltpunt heeft als het linksdraaiende scopolamine. Ook van scopolamine is het chloroauraat veel minder dan de overeenkomstige atropineverbinding in water oplosbaar (zie pag. 58); het kristalliseerde reeds uit de nog warme oplossing snel in veervormige, citroengele kristalletjes, met een smeltpunt van 208°, uit.

van het paraffinebad snel (10 à 15 graden per minuut) of langzaam (1 à 2 graden per minuut) werd opgevoerd. In het eerste geval werd voor het smeltpunt van scopolaminechloroauraat 201° gevonden (zie grafiek); werd de stof gebracht in een bad, dat de smelttemperatuur bijna had bereikt en de temperatuur vervolgens langzaam opgevoerd, dan werd 208° als smeltpunt vastgesteld.

Tenslotte moge er op worden gewezen, dat de curve geen smeltkromme is van atropine- en scopolaminegoudchloride, maar een empirische kromme, door middel waarvan het percentage alkaloïde uit het smeltpunt van het gemengde chloroauraat direct wordt gevonden.

HOOFDSTUK V

HET SPECTROGRAFISCH ONDERZOEK DER ALKALOÏDEN

De opnamen werden gemaakt met den spectrograaf van ZEISS, zooals die door VAN ARKEL en VAN DER WIELEN ¹⁾ bij het onderzoek der kina-alkaloiden gebruikt en beschreven werd.

Als lichtbron fungeert bij dezen spectrograaf het vonkenstatief volgens GRAMONT, bestaande uit twee wolfraamelectroden, waartusschen de spanning met behulp van een transformator op 10.000 Volt wordt gebracht; door middel van een weerstand wordt gezorgd voor een stroomsterkte van 3 ampère bij 220 Volt.

Het toestel is dusdanig ingericht, dat het licht achtereenvolgens een diaphragma met sluiters, waarmee de belichtingstijd kan worden geregeld, een kwartslens, de roteerende schijf volgens GUDE, het HÜFNER-prisma met de daaraan opgehangen cuvetten volgens SCHEIBE, een verstelbare spleet, waarvan de opening op 0,03 mm. werd gehouden, den collimator van den spectrograaf en het zgn. CORNU-prisma passeert. Het licht bereikt tenslotte een camera, waarvan het chassis zoodanig verschuifbaar is, dat op één fotografische plaat 40 opnamen kunnen worden gemaakt. Als belichtingstijd werd 3 minuten gekozen; later bleek deze tijd te kunnen worden gereduceerd tot $2\frac{1}{2}$ minuut, waardoor de duur van de totale opname werd bekort, zonder dat de scherpste der opnamen verminderde.

De sector van GUDE, die 120 toeren per minuut maakte, werd zoo gesteld, dat door het bovenste deel, corresponderend met de cuvet, gevuld met de te onderzoeken oplossing, tienmaal zoo veel licht doorliet als het onderste deel, dat de hoeveelheid licht bepaalde voor de cuvet met het oplosmiddel. Voor dezen sectorstand bestaat voor punten van gelijke zwarting in de dubbel-spectra een eenvoudige betrekking tusschen de extinctiecoëfficiënt

1) C. G. VAN ARKEL en P. VAN DER WIELEN, Pharm. Weekbl. **72**, 1198 (1935).

(E) en de dikte van de absorbeerende vlocistoflaag, d.i. de lengte van de gebruikte cuvet van SCHEIBE (d):

$$\log E = -\log d.$$

Door nu achtereenvolgens alle 21 cuvetten met de te onderzoeken vloeistof te vullen, verloopt E regelmatig van 1,0 tot $\sim 1,0$ en vinden we het spectrogram van de oplossing door $\log E$ in een grafiek als functie uit te zetten van de golflengte, waarbij de dubbelspectra een even groote lichtintensiteit bezitten. Het opzoeken van deze plaatsen van gelijke lichtsterkte geschiedde het best na projectie, eenvoudiger echter met behulp van een loupe.

Aangezien bij het onderzoek met waterige alkaloidenoplossingen werd gewerkt en de absorptie van water kon worden verwaarloosd, was het niet noodig ook de cuvet met het oplosmiddel telkens te verwisselen, maar werd eenvoudig de middelste van de gebruikte cuvetten met water gevuld. Voor en na de 21 opnamen werd steeds de golflengteschaal geprojecteerd en een opname gemaakt, waarbij de draaiende schijf en de beide cuvetten waren weggenomen. Dit laatste diende om te controleeren of de twee spectra door het HÜFNER-prisma wel precies boven elkaar werden gebracht en gelijk waren van lichtintensiteit.

Hiernaast is een opname van een volledig spectrogram weer-gegeven.

Om te beginnen werden spectrogrammen van de volgende zuivere alkaloiden gemaakt:

Atropin puriss. cryst. Merck,

Hyoscyamin puriss. cryst. Merck,

Scopolamin pur (atrosin) Merck,

Apoatropin hydrochloric. Merck,

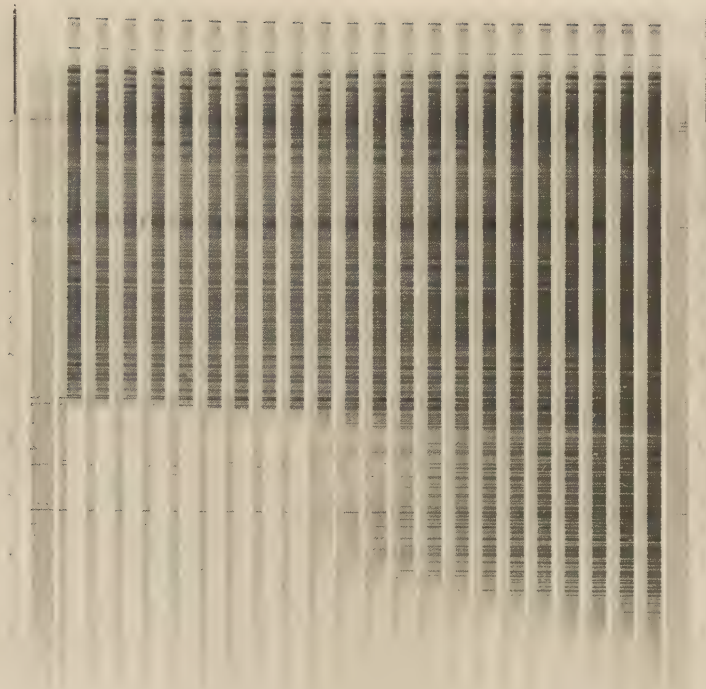
wit, fijn-kristallijn poeder. Na drogen boven kalk bedroeg het smeltpunt $237-239^\circ$. Het goudzout kristalliseerde uit warm, verdund zoutzuur in dunne, gele naaldjes, sm.p. $112-113^\circ$, uit.

Belladonnin Merck,

kubusvormige, eenige millimeters groote, witte kristallen, sm.p. 129° . Het chloroauraat, dat ook na omkristalliseeren een amorph uiterlijk behield, had geen scherp smeltpunt. Gevonden werd $137-139^\circ$ (vgl. tabel pag. 16).

De alkaloiden werden opgelost in 10 cm.^3 0,1 N. zoutzuur, waarna met gedestilleerd water tot 100 cm.^3 werd aangevuld.

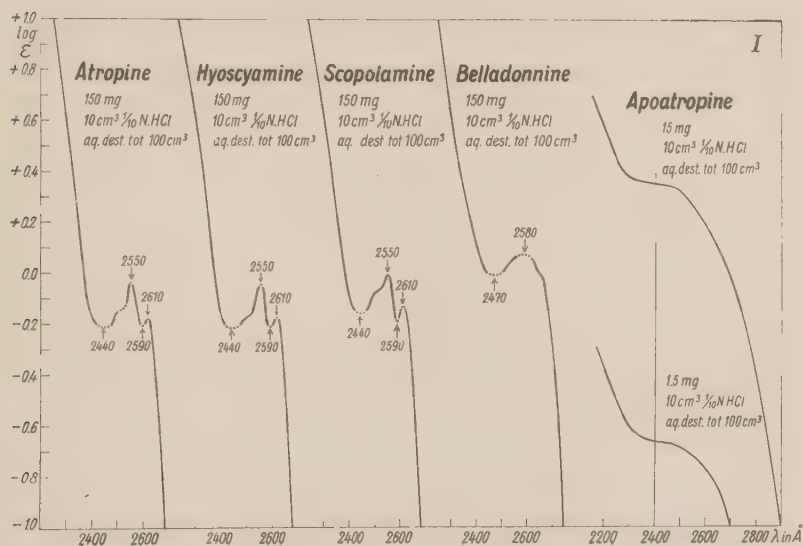
Absorptiespectrum van hyoscyamine



Voor atropine, hyoscyamine, scopolamine en belladonnine werd met een concentratie van 150 mg. tot 100 cm.³ een goed beeld verkregen, terwijl bij apoatropine van een meer verdunde oplossing moest worden uitgegaan. De maxima en minima van de met deze oplossingen gemaakte spectrogrammen bleken bij de volgende golflengten te liggen:

Atropine:	maxima:	2550 en 2610 Å;	minima:	2440 en 2590 Å
Hyoscyamine:	„	2550 en 2610 Å;	„	2440 en 2590 Å
Scopolamine:	„	2550 en 2610 Å;	„	2440 en 2590 Å
Belladonnine:	maximum:	2580 Å	; minimum:	2470 Å.

Door wisselen van den stand van den sector, waarbij ook punten in de kromme werden gevonden, die overeenkwamen met tusschen-



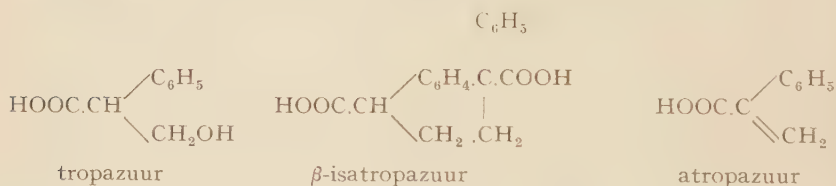
liggende waarden van log E, werd getracht deze maxima en minima zooveel mogelijk te benaderen ¹⁾. De curve van apoatropine vertoonde geen toppen, maar wel een vlak verlopend gedeelte bij een golflengte van ± 2400 Å.

Bij beschouwing van de spectrogrammen, die in grafiek I zijn

1) C. G. VAN ARKEL, Pharm. Weekbl. **75**, 485 (1938).

geteekend, zagen we ook hier den regel, dat stereoisomere stoffen identieke absorptiespectra geven, bevestigd: de krommen van atropine en hyoscyamine waren practisch gelijk, terwijl die van scopolamine, eveneens een tropazure ester, van de genoemde zeer weinig afweek¹⁾. De maxima en minima in de curven van deze drie alkaloiden lagen bij dezelfde golflengte; kwalitatief noch quantitatief waren ze langs spectrografischen weg te onderscheiden²⁾. De kromme, die voor belladonnine werd verkregen, vertoonde slechts één top, waarbij maximum en minimum, vergeleken met de corresponderende punten van de drie eerste curven, naar rechts waren verschoven, terwijl apoatropine, reeds in veel geringere concentratie, een geheel ander, van de vorige curven sterk afwijkend absorptiebeeld, zonder maxima en minima, gaf.

Een verklaring voor het in spectrografisch opzicht verschillend gedrag der Belladonna-alkaloiden moest blijkbaar gezocht worden in de ongelijke constitutie van de zure bestanddeelen, waarmee de tropine-achtige component in deze alkaloiden is veresterd (zie pag. 10 e.v.):



Vervolgens werden spectrogrammen gemaakt van de totaal-alkaloiden uit Radix en Folia Belladonnae (beide grondstoffen van onbekende herkomst) en wel op de volgende wijze:

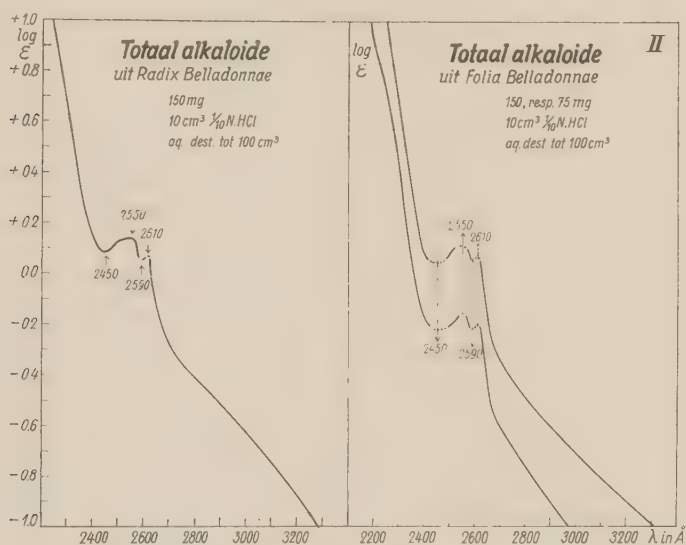
Van 30 g. tot poeder (B₁₀) gebrachten wortel, resp. blad, werden met aether en ammonia de alkaloiden uitgeschud, de aether grootendeels afgedestilleerd en de overgebleven aetherische oplossing met verdund zoutzuur uitgeschud. De vereenigde zure uitschuddingen werden met ammonia alkalisch gemaakt, met

1) Voor de genalkaloiden werd hetzelfde geconstateerd door V. BRUSTIER en P. BLANC, Bull. Soc. chim. (5) **1**, 702 (1934).

2) De spectrogrammen, die R. DIETZEL, F. SCHLEMMER en R. FISCHER, Arch. Pharm. **267**, 468 (1929), kregen bij een onderzoek naar de ontleding van atropine, hyoscyamine en scopolamine tijdens sterilisatie bij hooge temperatuur, wijken van die, welke hier werden gevonden, sterk af.

chloroform uitgeschud, de chloroform afgedestilleerd, tot slechts enkele cm^3 . waren overgebleven en de rest van het oplosmiddel door blazen verwijderd. Na drogen in den exsiccator bleef een wit, kristallijn mengsel van alkaloiden achter, waarvan door titratie de zuiverheid werd bepaald.

Van het alkaloidenmengsel, dat op analoge wijze uit een nieuwe hoeveelheid grondstof was geëxtraheerd, werd een oplossing bereid, die per 100 cm^3 150 mg. alkaloiden en 10 cm^3 0,1 N. zoutzuur bevatte en van de verkregen oplossing werd een spectrogram gemaakt ..



Daar de maxima en minima bij de curve van het alkaloiden uit Folia Belladonnae in de gebezigde concentratie voor het aflezen niet gunstig kwamen te liggen en daardoor onvoldoende konden worden benaderd, werd een tweede spectrogram gemaakt van een tweemaal zoo verdunde oplossing. Voor de maxima en minima werden de volgende golflengte-waarden gevonden:

Radix Belladonnae: maxima: 2550 en 2610 Å; minima 2450 en 2590 Å.
 Folia Belladonnae: „ 2550 en 2610 Å; „ 2540 en 2590 Å.

De krommen voor Radix en Folia waren, practisch gesproken,

identiek en vertoonden, wat vorm zoowel als ligging der maxima en minima betrof, zeer groote overeenkomst met die van atropine, hyoscyamine en scopolamine. Wetende, dat het totaal-alkaloïde voor het grootste deel uit hyoscyamine bestaat, hoefde dit resultaat geen verwondering te wekken *). De geringe vervlakking van de toppen, waardoor wortel- en bladcurve zich van het hyoscyamine-spectrogram onderscheidde, kon mogelijk op rekening worden gesteld van het veel sterker absorbeerende apcatropine, hoewel dit alkaloïde, zooals bij de verdere bepalingen bleek, als regel slechts enkele procenten van het totaal-alkaloïde vertegenwoordigt. Het meer naar boven liggen in de grafiek zou — de alkaloiden-concentratie van de oplossingen, gebruikt voor grafiek II, was gelijk gehouden aan die, met behulp waarvan grafiek I was gemaakt — op dezelfde wijze kunnen worden verklaard. Maar hoe dit ook zij, het hoeft geen verder betoog om in te zien, dat het spectrografisch onderzoek met betrekking tot de vraag naar de kwalitatieve en quantitatieve samenstelling van het totaal-alkaloïde, weinig perspectieven opende.

Hetzelfde gold voor de quantitatieve bepaling van het totaal-alkaloïde en voor de quantitatieve bepaling van atropine, hyoscyamine, scopolamine en belladonnine afzonderlijk. Deze bepalingen lieten zich op andere wijzen eenvoudiger en nauwkeuriger uitvoeren dan met behulp van den spectrograaf. Dit was niet het geval met apoatropine, waarvoor de spectrografische bepalingmethode de beste en de meest nauwkeurige bleek te zijn en waarvan dan ook bij de analyses van de verschillende monsters *Radix* en *Folia Belladonnae* steeds gebruik werd gemaakt. Over de quantitatieve bepaling van het apoatropine, zie verder pag. 47.

*) In overeenstemming hiermee bestond het chloroauraat, dat uit de gespectrografeerde oplossingen met goudchloride werd neergeslagen, uit goudgele plaatjes met een smeltpunt van 162°.

HOOFDSTUK VI

DE ANALYSEMETHODE VOLGENS KUHN EN SCHÄFER ¹⁾

1 – VOORSCHRIFT VAN DE BEPALING

Het volledige voorschrift, zooals dat door de auteurs werd gegeven, luidt als volgt:

„30 g. gedroogde en tot poeder gebrachte grondstof worden met 300 cm.³ aether krachtig geschud en gemengd met 10 cm.³ 10 pCt. ammonia. Na 2 uur schudden wordt de aether afgegoten, korten tijd boven uitgedroogd natriumsulfaat gedroogd en door een droog filter gefiltreerd. Van 200 cm.³ fitraat ($\equiv$ 20 g. grondstof) wordt op een waterbad de aether afgedestilleerd, tot nog eenige cm.³ over zijn en deze worden met 10 cm.³ 0,5 pCt. zoutzuur verwarmd, tot de aether is verdwenen. De zoutzure oplossing wordt in een scheitrechter gefiltreerd, kolf en filter worden driemaal met telkens 5 cm.³ water nagewasschen en door voorzichtig toevoegen van een verzadigde oplossing van natriumbicarbonaat ($\pm$ 10 pCt.) zwak alkalisch gemaakt.

„De aldus verkregen oplossing wordt driemaal met 20 cm.³ aether uitgeschud, waardoor scopolamine quantitatief wordt verwijderd en een gering deel van het atropine en hyoscyamine in den aether overgaat; de waterige oplossing, die het meerendeel van het atropine en hyoscyamine bevat, wordt opzij gezet. Van de bijeengevoegde aetherische uitschuddingen wordt op het waterbad de aether afgedestilleerd, tot nog eenige cm.³ over zijn; de rest van den aether wordt, na toevoegen van 10 cm.³ 0,5 pCt. zoutzuur, door verwarmen op het waterbad verdreven.

„De zoutzure oplossing wordt in een scheitrechter gefiltreerd, met natriumbicarbonaat alkalisch gemaakt en driemaal met aether uitgeschud, waarna deze heele bewerkiug

1) A. KUHN en G. SCHÄFER, D. Apoth. Ztg. **53**, 405, 424 (1938).

„voor een derde maal wordt verricht om van een volledige „scheiding zeker te zijn.

Scopolamine: De aetherische uitschuddingen worden bijeengevoegd „en gedroogd boven uitgedroogd natriumsulfaat. Daarna „wordt gefiltreerd, kolf en filter worden met aether nage- „wasschen en de aether afgedestilleerd. De rest wordt opge- „nomen in 2 cm.³ Spiritus fortior en, na verdunnen met „10 cm.³ water, met 0,1 N. zuur en methylrood-methyleen- „blauw als indicator getitreerd.

„Elke cm.³ 0,1 N. zuur $\equiv$ 0,0303 g. scopolamine.

Atropine en *hyoscyamine* worden aan de met 3 cm.³ sterke ammonia „alkalisch gemaakte, vereenigde waterige oplossingen ont- „trokken door driemaal met telkens 30 cm.³ chloroform uit „te schudden. De chloroform wordt geschud met 0,5 g. traga- „canth *) en na 1/2 uur gefiltreerd. Kolf en filter worden nage- „wasschen, de chloroform grootendeels afgedestilleerd, de „rest door blazen verwijderd, waarna gedurende meerdere „uren in den exsiccator wordt gedroogd.

„Vervolgens worden precies 20 cm.³ alcohol van 90 Vol. „pCt. in de kolf gepipetteerd en de oplossing wordt na 2 uur „staan gefiltreerd. Van deze oplossing, waarvan 1 cm.³ over- „eenkomt met 1 g. grondstof, worden bepaald:

„a. Het soortelijk gewicht met behulp van een pycnometer.

„b. De draaiing van het polarisatievlak.

„c. De hoeveelheid er in aanwezig alkaloïde: 10 cm.³ alkoho- „lische oplossing worden gemengd met 20 cm.³ water en „getitreerd met 0,1 N. zuur op methylrood-methyleen- „blauw. Elke cm.³ 0,1 N. zuur $\equiv$ 0,0289 g. hyoscyamine- „atropine ¹⁾.

„Is de gevonden draaiing α , de lengte van de gebruikte „polarisatiebuis l dm., de specifieke draaiing van hyoscyamine

*) De chloroform werd van deze bewerking zeker niet „droger”, aangezien tragacanth onder deze omstandigheden niet in staat is om water te binden.

1) In deze zelfde oplossing kan volgens R. WILLSTÄTTER en E. HUG. Z. Physiol. Chem. **79**, 148 (1912), apoatropine bepaald worden door titratie met 0,1 N. broomwater.

„ $[\alpha]_D$ en wordt voor het soortelijk gewicht van de oplossing „een waarde d gevonden, dan is het gehalte in procenten aan „hyoscyamine in het uitgangsmateriaal:

$$H = \frac{a \cdot 100}{l \cdot [\alpha]_D \cdot d}.$$

„Door aftrekken van het onder c getitreerde alkaloïde wordt „het gehalte aan atropine gevonden”.

Tevoren gingen KUHN en SCHÄFER den invloed van alkali en alcoholconcentratie op de racemisatie, resp. specifieke draaiing, van hyoscyamine na. Natronloog bleek een zeer sterke, ammonia geen invloed op de racemisatie uit te oefenen, waaruit volgde, dat, voor het in vrijheid stellen van de alkaloiden bij de verschillende bewerkingen, ammonia het aangewezen alkali was.

Tusschen alcoholconcentratie en specifieke draaiing bleek bij hyoscyamine een rechte evenredigheid te bestaan. Voor alcohol van 90 Vol. pCt. werd $[\alpha]_D = -24^{\circ},05$ gevonden.

2 - KRITIEK OP DE BEPALING

Alvorens de beschreven methode toe te passen op het ter beschikking staande plantenmateriaal, werd deze eerst getoetst aan de reeds meer genoemde praeparaten van Merck.

a) Begonnen werd met het onderzoek van mengsels, bestaande uit atropine en hyoscyamine. De alkaloiden werden opgelost in 20 cm.³ alcohol 90 Vol. pCt. en van de oplossing werden soortelijk gewicht en draaiing bepaald; daarna werden 10 cm.³ met zuur getitreerd. Vooraf was de specifieke rotatie van het gebruikte hyoscyamine bepaald en de zuiverheid van de alkaloiden door acidimetrische titratie gecontroleerd.

De resultaten, die in onderstaand lijstje, waarin de getallen grammen alkaloïde voorstellen, worden weergegeven, waren, zocals trouwens wel verwacht kon worden, zeer bevredigend.

Hyoscyamine

afgewogen:	door draaiing gevonden:	contrôle-titratie:
0,250	0,250	0,250
0,298	0,297	0,297

Mengsels van hyoscyamine en atropine

	fg. wogen:	teruggevonden:
1. Hyosc. en atrop. samen.	0,265	0,265 (titrimetrisch)
Hyoscyamine	0,157	0,158 (polarimetrisch)
Atropine.	0,108	0,107 (door aftrekken)
2. Hyosc. en atrop. samen.	0,314	0,313 (titrimetrisch)
Hyoscyamine	0,100	0,099 (polarimetrisch)
Atropine.	0,214	0,214 (door aftrekken)
3. Hyosc. en atrop. samen.	0,396	0,393 (titrimetrisch)
Hyoscyamine	0,246	0,245 (polarimetrisch)
Atropine.	0,150	0,148 (door aftrekken)
4. Hyosc. en atrop. samen.	0,150	0,149 (titrimetrisch)
Hyoscyamine	0,075	0,075 (polarimetrisch)
Atropine.	0,075	0,074 (door aftrekken)

b) Vervolgens werden eenige mengsels van atropine, hyoscyamine en scopolamine onderzocht, waarbij de heele uitschudgang werd gevolgd. Er werd daarbij telkens uitgegaan van het optisch inactieve scopolamine, waardoor, ook al werd dit alkaloïde bij het uitschudden niet quantitatief verwijderd, steeds uit de draaiing het hyoscyamine kon worden berekend. In de plant is het echter waarschijnlijk dat, evenals hyoscyamine naast atropine wordt gevonden, ook van het scopolamine de linksdraaiende en de optisch inactieve vorm naast elkaar voorkomen. Ter contrôle werden daarom ook eenige proefjes verricht met het optisch actieve Hydrobromas Scopolamini Merck, waaruit bleek, dat dit zich bij het uitschudden met aether in bicarbonaat-milieu niet anders gedroeg dan het inactieve scopolamine.

Mengsels van hyoscyamine, atropine en dl-scopolamine

	afgewogen:	teruggevonden:	verlies:
1. Hyoscyamine	0,200	0,191	0,009
Atropine.	0,100	0,086 *)	0,014
dl-scopolamine	0,010	0,006	0,004
Totaal.	0,310	0,283	0,027
2. Hyoscyamine	0,134	0,128	0,006
Atropine.	0,060	0,063 *)	— 0,003
dl-scopolamine	0,023	0,007	0,016
Totaal.	0,217	0,198	0,019

*) Het niet-uitgeschudde scopolamine is in dit getal verdisconteerd.

Zoowel voor scopolamine als voor hyoscyamine en atropine werden bij deze analyses te lage waarden gevonden.

1° - *Scopolamine*

Wat betreft het scopolamine; om de oplossing, waaruit dit alkaloïde bij de bepaling werd uitgeschud, zwak alkalisch te maken, werd steeds 2 cm.³ van een verzadigde oplossing van natriumbicarbonaat toegevoegd. Deze hoeveelheid was voldoende om de overmaat zuur te neutraliseeren en de p_H van de oplossing op 7 te brengen. Werde er meer bicarbonaatoplossing toegevoegd, dan bleef de p_H dezelfde en veranderde dienovereenkomstig de hoeveelheid alkaloïde, die uit eenige oplossingen van 50 mg. scopolamine in 10 cm.³ 0,1 N. HCl, gemengd met resp. 2,5 en 10 cm.³ bicarbonaatoplossing, kon worden uitgeschud met driemaal 20 cm.³ aether, niet:

toegevoegde NaHCO ₃ -opl.:	teruggevonden scopolamine:
2 cm. ³	36 mg.
5 cm. ³	37 mg.
10 cm. ³	37 mg.

Werden de afgewogen hoeveelheden scopolamine gevarieerd en steeds 2 cm.³ bicarbonaatoplossing toegevoegd, dan bleek er, zooals het volgende tabelletje laat zien, eveneens ongeveer 75 pCt. van het scopolamine te worden teruggevonden. Het tekort was niet aan ontleding te wijten, want de rest van het alkaloïde kon uit de overgebleven waterige oplossing met chloroform, na toevoeging van ammonia, worden uitgeschud:

afgewogen scopolamine:	met aether uitgeschud:	daarna met NH ₃ en CHCl ₃ uitgeschud:	teruggevonden totaal:
50 mg.	37 mg.	13 mg.	50 mg.
30 mg.	22 mg.	7 mg.	29 mg.
20 mg.	15 mg.	5 mg.	20 mg.
10 mg.	8 mg.	—	8 mg.
5 mg.	5 mg.	—	5 mg.

Door volgens het voorschrift te werken en de geheele uitschudbewerking driemaal te verrichten, ging uit den aard der zaak nog meer scopolamine verloren dan hier al het geval was, terwijl het tekort als atropine werd berekend.

Scopolamine kon op deze wijze dus niet quantitatief worden bepaald.

2° – Atropine en hyoscyamine

Wat betreft hyoscyamine en atropine: ook deze alkaloiden werden bij een $f_H = 7$ met aether gedeeltelijk uitgeschud. Hier bleek dit o.a. doordat uit een oplossing van 75 mg. hyoscyamine, 75 mg. atropine en 50 mg. scopolamine in 10 cm.³ 0,1 N. HCl, gemengd met 2 cm.³ verzadigde bicarbonaatoplossing, na eenige malen uitschudden met telkens 20 cm.³ aether, meer alkaloïde was verkregen dan de afgewogen hoeveelheid scopolamine bedroeg. Gevonden werd:

In de eerste uitschudding:	13 mg. alkaloïde	(0,46 cm. ³ 0,1 N. zuur)
„ „ tweede „	18 „ „	(0,68 „ „ „)
„ „ derde „	16 „ „	(0,57 „ „ „)
„ „ vierde „	16 „ „	(0,56 „ „ „)
„ „ vijfde „	13 „ „	(0,46 „ „ „)

Door SCHOORL¹⁾ werd in zijn uitschudstelsel der alkaloiden op dit feit gewezen en KUHN en SCHÄFER hielden er rekening mee, door de uitgeschudde waterige oplossing apart te zetten en het alkaloïde uit de aetherische oplossing opnieuw op te lossen in zuur, de oplossing te mengen met bicarbonaat en weer driemaal uit te schudden met 20 cm.³ aether. Na het alkaloïde uit de aetherische oplossing voor de derde maal op dezelfde wijze te hebben behandeld, bleek er inderdaad in de waterige oplossing nog slechts weinig alkaloïde aanwezig te zijn:

	Afge- wogen alka- loïde:	na een- maal be- handelen met 3 × 20 cm. ³ aether:	na twee- maal be- handelen met 3 × 20 cm. ³ aether:	na drie- maal be- handelen met 3 × 20 cm. ³ aether:	totaal terug- gevon- den:	tekort:
Hyoscyamine	0,200	0,173	0,013	0,005	0,191	0,009
Atropine	0,100	0,070	0,013	0,003	0,086*)	0,014
Scopolamine	0,010				0,005	0,005

Voor scopolamine werd weer te weinig gevonden, maar ook voor hyoscyamine en atropine was dat het geval. Het laatste werd eveneens geconstateerd, wanneer een mengsel van atropine en

1) N. SCHOORL, Organische analyse, dl. III, 99 (1941).

*) Een deel hiervan kon weer bestaan uit niet-verwijderd scopolamine.

hyoscyamine, zonder toevoeging van scopolamine, aan de voorgescreven bewerkingen werd onderworpen:

	afgewogen:	teruggevonden:	verlies:
Hyoscyamine. . .	0,151	0,144	0,007
Atropine.	0,050	0,039	0,011
Totaal.	0,201	0,183	0,018

Behalve aan analysefonten moest bij dit verlies toch ook worden gedacht aan een mogelijke ontleding der alkaloiden. Gedurende welke fase van de geheele analyse deze splitsing dan zou moeten hebben plaats gehad, kon worden nagegaan aan de hand van mededeelingen over de ontleding van atropine en hyoscyamine onder verschillende omstandigheden. Van de onderzoekers, die over dit onderwerp hebben gewerkt, komen PALKIN en WATKINS ¹⁾ in een uitvoerige studie tot de volgende conclusies:

a) De vrije basen zijn in organische oplosmiddelen, mits deze watervrij zijn, zelfs bij kooktemperatuur, stabiel.

Ook in de alcoholische oplossing, zooals die bij de methode van KUHN en SCHÄFER gebruikt werd voor draaiing en titratie, traden, zulks in tegenstelling tot de bevindingen van GADAMER ²⁾, geen veranderingen op. Verschillende oplossingen, die steeds een zelfde hoeveelheid hyoscyamine, resp. atropine, in gelijke hoeveelheden Spiritus, bevatten, werden direct en na verloop van tijd getitreerd, terwijl van de hyoscyamine-oplossingen ook de draaiing werd bepaald. Na drie dagen bleek noch deze laatste, noch de voor de titratie benodigde hoeveelheid zuur te zijn achteruitgelopen.

FRICKE en KAUFMAN ³⁾ constateerden, dat, wanneer de aetherische oplossing van deze alkaloiden op het waterbad tot droog werd ingedampt, geen ontleding optrad. Werd chloroform in plaats van aether genomen, dan bedroeg het verlies, afhankelijk van de soort chloroform, tenminste 7 pCt., terwijl dit verlies grooter werd naarmate de alkaloiden, nadat het oplosmiddel was verdampt, nog langer op het waterbad werden verhit. Door toevoegen van 5 cm.³ Spiritus fortior, voordat alle chloroform was verdampt,

1) S. PALKIN en H. R. WATKINS, J. Am. Pharm. Assoc. **16**, 23 (1927).

2) J. GADAMER, Arch. Pharm. **239**, 302 (1901).

3) H. H. FRICKE en K. L. KAUFMAN, J. Am. Pharm. Assoc. **27**, 574 (1938); **28**, 215 (1939).

kon de ontleding worden tegengegaan. Verwarming met neutralen Spiritus fortior gedurende een uur op het waterbad bleek van geen invloed te zijn.

In verband hiermee werd van de alkaloidenoplossingen in chloroform, bij deze en andere bepalingen, steeds afgedestilleerd tot nog weinig chloroform over was en de rest van het oplosmiddel door blazen verwijderd. Het uitschudden van atropine en hyoscyamine uit de waterige, ammoniakale oplossing met chloroform, gevolgd door afdestilleeren, gaf dan ook geen aanleiding tot verlies, wat nog eens extra werd gecontroleerd door een mengsel der alkaloiden op deze wijze uit te schudden. Na afdestilleeren der chloroform was de berekende hoeveelheid zuur ter neutralisatie noodig.

b) De alkaloidezouten ondergaan in waterige oplossing geen verandering; bij koken van de alkaloiden met zuur treedt geen hydrolyse op.

c) De vrije alkaloiden zijn niet stabiel in waterige oplossing; alkaliën en verwarming bevorderen de splitsing.

POTJEWIJD ¹⁾ merkte hierbij op, dat hydrolyse en racemisatie optreden bij een waterstofionenconcentratie groter dan 6,0, terwijl de hydrolysesnelheid van hyoscyamine en atropine in gelijke mate met stijgende alkaliteit toeneemt. Een neutrale oplossing van atropinesulfaat ($p_H = 7,0$) bleek, na twee uur koken op het waterbad, al voor ongeveer 10 pCt. te zijn ontleed ²⁾. DOTT ³⁾ stelde vast, dat het alkaloidengehalte van Sulfas Atropini en Extractum Belladonnae ook achteruitliep, wanneer hij waterige oplossingen van deze stoffen met ammonia of natriumcarbonaat rustig liet staan. Hetzelfde verschijnsel, hoewel in mindere mate, deed zich voor na toevoegen van natriumbicarbonaat.

3 - CONCLUSIES

Mede in verband met deze waarnemingen leek het waarschijnlijk, dat het tekort aan atropine en hyoscyamine, zooals dat bij de voorgaande proefjes werd gevonden, een gevolg was van het gedeeltelijk hydrolyseeren der alkaloiden gedurende het uitschudden in bicarbonaat-milieu. Het optreden van dit verlies en het niet quantitatief

1) T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934), 55.

2) T. POTJEWIJD, Diss. Leiden (1934), 53.

3) D. B. DOTT, Pharm. J. **107**, 286 (1921).

terugvinden van het scopolamine maakten de methode van KUHN en SCHÄFER ongeschikt om zonder meer bij het verdere onderzoek te worden toegepast.

De analyse volgens KUHN en SCHÄFER werd in de literatuur nog verscheidene malen aangehaald, nagewerkt en gekritiseerd. EDER en RUCKSTUHL¹⁾ geven van deze onderzoeken in een uitgebreid artikel een uitvoerig overzicht.

MÄRKI²⁾, hierop opmerkzaam gemaakt, doordat bij verschillende analyses het gehalte aan hyoscyamine dat van het totaal-alkaloïde bleek te overtreffen, vestigt de aandacht op een fout in de door KUHN en SCHÄFER voor het berekenen van dit hyoscyaminegehalte gebezigde formule. Deze formule:

$$\%p = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot [\alpha]_D^{20} \cdot d}$$

dient vervangen te worden door

$$\%p = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot 100}{l \cdot [\alpha]_D^{20} \cdot 5 \cdot S},$$

welke formule geldt, wanneer 20 cm.³ alcoholische oplossing, overeenkomend met S gram grondstof, bij de bepaling worden gepolariseerd. FEHR³⁾ gebruikte in zijn studie over de wijze van conserveeren van Radix Belladonnae eveneens de verkeerde formule en ook zijn getallen zijn dus te hoog en niet juist.

Opvallend is verder, dat geen van de latere onderzoekers zich de moeite troostte, de door KUHN en SCHÄFER gepubliceerde getallen van de analyses, zooals de auteurs die vooraf met zuivere alkaloiden uitvoerden, te controleren door deze proefjes te herhalen. Behoudens enkele geringe verbeteringen werd de geheele analysemethode, ook voor zoover het de scheiding tusschen scopolamine eenerzijds en atropine-hyoscyamine anderzijds betrof, steeds zonder meer overgenomen. Het gelukte dan ook noch aan EDER en RUCKSTUHL, noch aan FEHR en evenmin aan MÄRKI, die eveneens verschillende Belladonnamonsters onderzocht, om scopolamine in de plant aan te toonen. Na het voorgaande hoeft dit geen verwondering te wekken.

1) R. EDER en O. RUCKSTUHL, Pharm. Acta Helv. **18**, 605 (1943).

2) W. MÄRKI, Ibid. **18**, 229 (1943).

3) H. FEHR, Diss. ETH Zürich (1942).

HOOFDSTUK VII

DE ANALYSEMETHODE VOLGENS W. KÜSSNER ¹⁾

1 - VOORSCHRIFT VAN DE BEPALING

„250 g. tot poeder (A $1\frac{1}{2}$) gebrachte Belladonnawortel, met „een bekend vochtgehalte, worden gemengd met een op- „lossing van 125 g. natriumcarbonaat in 250 g. water en in „een Soxhlet-apparaat met methyleenchloride tot uitputting „geëxtraheerd. Het methyleenchloride wordt — aan het eind „in vacuo — afgedestilleerd en de rest, die sterk veront- „reinigd is, vermengd met 100 cm.³ water en zoutzuur tot „zwak zure reactie op congopapier. Vervolgens wordt vijfmaal „met telkens 100 cm.³ aether uitgeschud ter verwijdering van „niet-basische verontreinigingen.

a - Apoa tropine. Uit de aldus verkregen oplossing kan apoatropine, waarvan het zoutzure zout gemakkelijk oplosbaar is in chloroform, door tienmaal uit te schudden met telkens 100 cm.³ chloroform, worden geïsoleerd. Het wordt, nadat het oplosmiddel is afgedestilleerd, opgelost in 2 N. zwavelzuur *) en getitreerd met 0,1 N. bromide-bromaatoplossing en kaliumjodide-stijfelpapier als indicator.

b - Belladonnine. De waterige oplossing, die de overige alkaloiden, waarvan de hydrochloriden slecht in chloroform oplosbaar zijn, bevat, wordt met natriumcarbonaat alkalisch gemaakt en vijfmaal met 100 cm.³ aether uitgeschud **). De aether

1) W. KÜSSNER, E. Merck's Jahresbericht 1938, 39.

*) De hoeveelheid 2 N. zwavelzuur wordt in het voorschrift niet aangegeven; genomen werd 10 cm.³

**) Volgens den auteur bevat de waterige oplossing na vijfmaal uitschudden nog alkaloiden, dat zich met aether niet verder laat verwijderen. Dit kon worden bevestigd, doordat in de waterige oplossing, die als regel met joodkali een neerslag gaf, langs destructieven weg (zie pag. 78) stikstofhoudende verbindingen waren aan te toonen.

„wordt afgedestilleerd en de rest opgenomen in de tienvoudige „hoeveelheid tetrachloorkoolstof. Het gedeelte, dat niet in „oplossing gaat, maar in bruine druppeltjes boven blijft „drijven, wordt over een watje gefiltreerd, opgelost in chloro- „form en gravimetrisch bepaald. De rest, die mogelijk niet „uit zuiver belladonnine bestaat, maar hiermee wel het „amorphe voorkomen en de slechte oplosbaarheid in tetra- „chloorkoolstof gemeen heeft, wordt het best als „restalka- „loide” in rekening gebracht.

c - Hyoscyamine en atropine. Uit de oplossing van de alkaloiden „in tetrachloorkoolstof scheiden zich bij staan hyoscyamine „en atropine in naaldvormige kristallen af, terwijl scopolamine „in oplossing blijft. Na 24 uur wordt gefiltreerd, met weinig „tetrachloorkoolstof nagewasschen, op dezelfde wijze nog eens „uit tetrachloorkoolstof omgekristalliseerd, weer met weinig „tetrachloorkoolstof uitgewasschen en het kristallisaat ge- „durende 24 uur in hoog vacuum boven silicagel bewaard. „Vervolgens wordt gewogen (= atropine + hyoscyamine) en „de rotatie in chloroformoplossing bepaald (= hyoscyamine).

d - Scopolamine. De tetrachloorkoolstofloogen, onder *c.* ver- „kregen, worden vijfmaal met telkens 20 cm.³ 0,1 N. zout- „zuur uitgeschud, de zure uitschuddingen bijeengevoegd, met „natriumbicarbonaat alkalisch gemaakt en viermaal met „50 cm.³ aether uitgeschud. De aether wordt afgedestilleerd, „de rest één uur bij 75° gedroogd en gewogen als „ruw-scopo- „lamine”. Deze ruw-scopolamine wordt vervolgens weer op- „gelost in zoutzuur en met goudchloride gepræcipiteerd (voor „elke 100 mg. scopolamine 40 cm.³ 0,1 N. HCl en 2 cm.³ 10 pCt. „AuCl₃). Na 4 uur staan wordt het neerslag afgefiltreerd, „uitgewasschen met weinig 0,1 N. zoutzuur, bij 90° tot con- „stant gewicht gedroogd en gewogen”.

Schematisch voorgesteld:

250 g. grondstof (A 1 $\frac{1}{2}$) + 125 g. natriumcarbonaat, opgelost in 250 g. water, tot uitputting extraheeren met CH₂Cl₂. Afdestilleeren, rest mengen met 100 cm.³ water en HCl tot zwak zuur op congopapier.

Uitschudden met 5 maal 100 cm.³ aether.

<i>Zure waterige oplossing</i>	Alkalsch maken met natriumcarbonaat en uitschudden met 5 maal 100 cm. ³ aether. Aether afdestilleeren en rest opnemen in de tienvoudige hoeveelheid CCl ₄		
	<i>Amorph alkaloide (druppels)</i>	<i>Kristallisaat</i>	<i>Filtraat</i>
Uitschudden met 10 maal 100 cm. ³ CHCl ₃ .			
Afdestilleeren; rest opnemen in 2 N. H ₂ SO ₄ .	Affiltreeren, oplossen in CHCl ₃ en wegen als <i>belladonnine</i> (restalkaloide).	Na 24 uur affiltreeren, nawasschen en omkristalliseeren.	Uitschudden met 5 maal 20 cm. ³ 0,1 N. HCl, met bicarbonaat alkalisches maken, uitschudden met 4 maal 50 cm. ³ aether.
Titreeren met 0,1 N. bromidebromaat.		Na 24 uur bewaren in hoogvacuum boven silicagel:	
Elke cm. ³ $\equiv$ 0,01355 g. <i>apoa tropine</i> .		1. Wegen. 2. Polariseeren.	Afdestilleeren, rest wegen als <i>ruw-scopolamine</i> .
		<i>hyoscyamine</i> . <i>atropine</i> .	Oplossen in HCl, neerslaan met AuCl ₃ en wegen als <i>scopolamine-chloroauraat</i> .

2 - KRITIEK OP DE BEPALING

a - De extractie der alkaloiden

Bij het toepassen van de methode op Radix Belladonnae werd allereerst de ervaring opgedaan, dat de als meestal voldoende aangegeven extractietijd van 3 uur in het algemeen te kort was en dat de aflopende vloeistof in den regel na een dag extraheeren nog alkaloide bevatte. Was dit mogelijk ten deele het gevolg van een minder goede apparatuur, het hoeft geen betoog, dat bij een

langere extractietijd, zelfs met het laagkokende methyleenchloride (kpt. 40°), speciaal onder invloed van het natriumcarbonaat, de kans op ontleding der alkaloiden grooter werd. Veiliger en beter leek dan ook de uitschudmethode, die de Zwitsersche Pharmacopee bij de gehaltebepaling van Radix Belladonnae volgt en die ook door KUHN en SCHÄFER werd toegepast.

Het voorschrift van deze bepaling luidt:

„Schud 12 g. Radix Belladonnae (B_{40}) gedurende $7\frac{1}{2}$ uur
 „met 120 g. aether en 5 cm.³ ammonia (2 N.). Filtreer, na
 „bezinken, de bovenstaande vloeistof over een wattenprop
 „in een Erlenmeyerkolf van 300 cm.³ en destilleer van 80 g.
 „filtraat, op een waterbad, het oplosmiddel af. Neem de
 „destillatiereest direct op in 10 cm.³ aether, destilleer ook
 „deze af, voeg 5 cm.³ alkohol (95 Vol. pCt.) toe en verwarm
 „onder voortdurend omzwenken gedurende 2 minuten op
 „een zacht kokend waterbad. Verdun dan met 30 cm.³ versch
 „uitgekookt en weer afgekoeld gedestilleerd water, voeg
 „5 cm.³ 0,1 N. zoutzuur en 10 druppels methylrood toe en
 „titreer de overmaat zuur uit een microburet met 0,1 N.
 „natronloog tot gele kleur terug.
 „Elke cm³ gebonden 0,1 N. zuur $\equiv$ 0,0289 g. alkaloiden”.

Voor de bepaling van de verschillende alkaloiden diende van veel meer dan 12 gram grondstof te worden uitgegaan, waarvoor ook een evenredig grootere hoeveelheid aether noodig was. Door echter te werken met grootere quantiteiten uitschudvloeistof, stonden de alkaloiden bij het afdestilleeren hiervan langer bloot aan een verhoogde temperatuur en waar dit het ontleden van de alkaloiden weer kon bevorderen, werd nagegaan in hoeverre het mogelijk was, de hoeveelheid aether in het voorschrift van de Zwitsersche Pharmacopee te verminderen. Bovendien werd gecontroleerd of de schudtijd van $\frac{1}{2}$ uur wel voldoende was en of de voorgeschreven hoeveelheid ammonia ook diende te worden gewijzigd.

Door steeds uit te gaan van 12 gram Radix Belladonnae (B_{40}) en verder het geheele voorschrift der Zw. Ph. te volgen, werden de volgende getallen voor het totaal-alkaloidengehalte verkregen:

Schudtijd	5 cm. ³ 5 pCt. ammonia 120 g. aether	5 cm. ³ 10 pCt. ammonia 120 g. aether	5 cm. ³ 10 pCt. ammonia 80 g. aether	5 cm. ³ 10 pCt. ammonia 40 g. aether
1/2 uur	0,675 } 0,674 0,673 } pCt.	0,668 } 0,669 0,670 } pCt.	0,656 } 0,660 0,663 } pCt.	0,686 } 0,672 } 0,62 0,621 } pCt. 0,586 }
1 uur	0,664 } 0,666 0,668 } pCt.	0,654 } 0,661 } 0,658 0,652 } pCt. 0,664 }	0,657 } 0,655 0,653 } pCt.	
2 uur	—	0,642 } 0,649 0,656 } pCt.	0,632 } 0,637 0,642 } pCt.	—
5 uur	0,641 } 0,641 0,641 } pCt.	0,643 } 0,642 } 0,639 0,631 } 0,639 }	0,636 } 0,637 0,638 } pCt.	

Ook chloroform en mengsels van chloroform en aether werden als uitschudvloeistof gebezigd, maar de uitkomsten waren onregelmatiser en gemiddeld iets hooger dan die, welke bij het gebruik van aether werden verkregen. Het vasthouden van ammoniak en andere vluchtige basen (zie pag. 74) speelde hier waarschijnlijk een rol, terwijl ook al door zijn hooger kookpunt chloroform als uitschudvloeistof minder geschikt was dan aether.

Bij het gebruik van aether werden, zooals de tabel duidelijk laat zien, voor het totaal-alkaloïde lagere waarden gevonden, naarmate langer werd geschud (ontleding, zie pag. 40). Slechts weinig lager werden de uitkomsten, wanneer ammonia 10 pCt. i.p.v. ammonia 5 pCt. werd toegevoegd (ontleding?) en wanneer 80 gram i.p.v. 120 gram aether werd genomen. De onregelmatige en lagere waarden, die bij het gebruik van 40 gram uitschudvloeistof werden verkregen, konden uit het verdampen van den aether tijdens het affiltreren en uit het minder in oplossing gaan van de alkaloiden worden verklaard. De beste uitschudwijze leek dus die, waarbij een schudtijd van 1/2 uur en een verhouding tusschen grondstof en uitschudvloeistof van 1 : 10 in acht werd genomen: deze vond dan ook bij de verdere analyses toepassing *).

*) Deze gevolgtrekking werd naderhand door EDER en RUCKSTUHL, Pharm. Acta Helv. 18, 632 (1943), bevestigd; ook zij prefereerden een uitschudtijd van 1/2 uur boven die van 2 uur volgens KUHN en SCHÄFER.

Er werd daarbij steeds uitgegaan van 75 gram grondstof, omdat dan eenerzijds de hoeveelheid aether (750 g., d.i. ongeveer 1 liter) nog goed te verwerken was en anderzijds toch een quantiteit alkaloïde werd verkregen, die een voldoende waarborg voor nauwkeurige uitkomsten gaf. Deze hoeveelheid bedroeg, wanneer de grondstof 0,5 pCt. alkaloïde bevatte, ongeveer 300 mg.

b – De bepaling van apoatropine

Beter dan de druppeltitratie met kaliumjodide-stijfelpapier als indicator, voldeed de methode, waarbij aan de oplossing van apoatropine een overmaat bromide-bromaat werd toegevoegd, welke overmaat na een half uur staan jodometrisch werd getitreerd. Met Apoa tropin hydrochloric. Merck werden hierbij goede uitkomsten verkregen, terwijl de directe bromometrische titratie met methyloorood als indicator veel te lage uitkomsten gaf.

Toch voldeed deze werkwijze bij de bepaling van het apoatropine in plantaardige grondstoffen veel minder goed dan verwacht was. Soms werden juiste, meestal echter te hooge en onregelmatige uitkomsten verkregen.

De bepaling werd aanvankelijk zóó uitgevoerd, dat de verdampingsrest van de uitschuddingen met chloroform in haar geheel werd overgebracht in een Erlenmeyer kolfje met ingeslepen stop, waarna zuur en bromide-bromaatoplossing werden toegevoegd. Deze verdampingsrest bestond echter nooit uit zuiver alkaloïde, maar was steeds verontreinigd met de weinige vetachtige stoffen, die met aether onvoldoende waren verwijderd en daarna met chloroform werden uitgeschud. Gedacht werd, dat deze vetachtige stoffen, door het binden van bromium, de te hooge uitkomsten veroorzaakten. Werd n.l. bij een monster Radix Belladonnae, waarin op de aangegeven wijze 0,020 pCt. apoatropine was gevonden, in een tweede bepaling het alkaloïde uit de verdampingsrest opgelost in 0,1 N. zoutzuur en de verontreiniging door filtratie verwijderd, dan werd in de met gedestilleerd water tot 100 cm.³ aangevulde oplossing (zie pag. 29) spectrografisch 0,0055 pCt. gevonden, terwijl nu ook de bromometrische bepaling een lagere, met de door middel van den spectrograaf gevonden kloppende uitkomst, n.l. 0,006 pCt., gaf.

Maar toch, ook wanneer de oplossing van te voren gefiltreerd

werd, dan nog werden dikwijls te hooge waarden gevonden en wel tengevolge van het zeer sterke bijkleuren van de met thiosulfaat te titreeren vloeistof. Door minder, b.v. 5 i.p.v. 20 cm.³ 2 N. zwavelzuur te gebruiken en de oplossing vóór de titratie te verdunnen, b.v. met 100 cm.³ water, werd van oxydatie, die bij de eigenlijke bepaling steeds veel sterker optrad dan bij de blanco-bepalingen, minder last ondervonden. Trouwens, wanneer de vetachtige verontreinigingen langs gravimetrischen weg quantitatief werden bepaald, dan bleek wel uit de gevonden hoeveelheid, dat deze te gering was, om daaruit alleen de onregelmatige uitkomsten te kunnen verklaren.

De meest veilige, zij het meer omslachtige methode voor het bepalen van apootropine, was echter de spectrografische bepalingswijze, die aan nauwkeurigheid niets te wenschen overliet en bij het verdere onderzoek dan ook steeds werd toegepast.

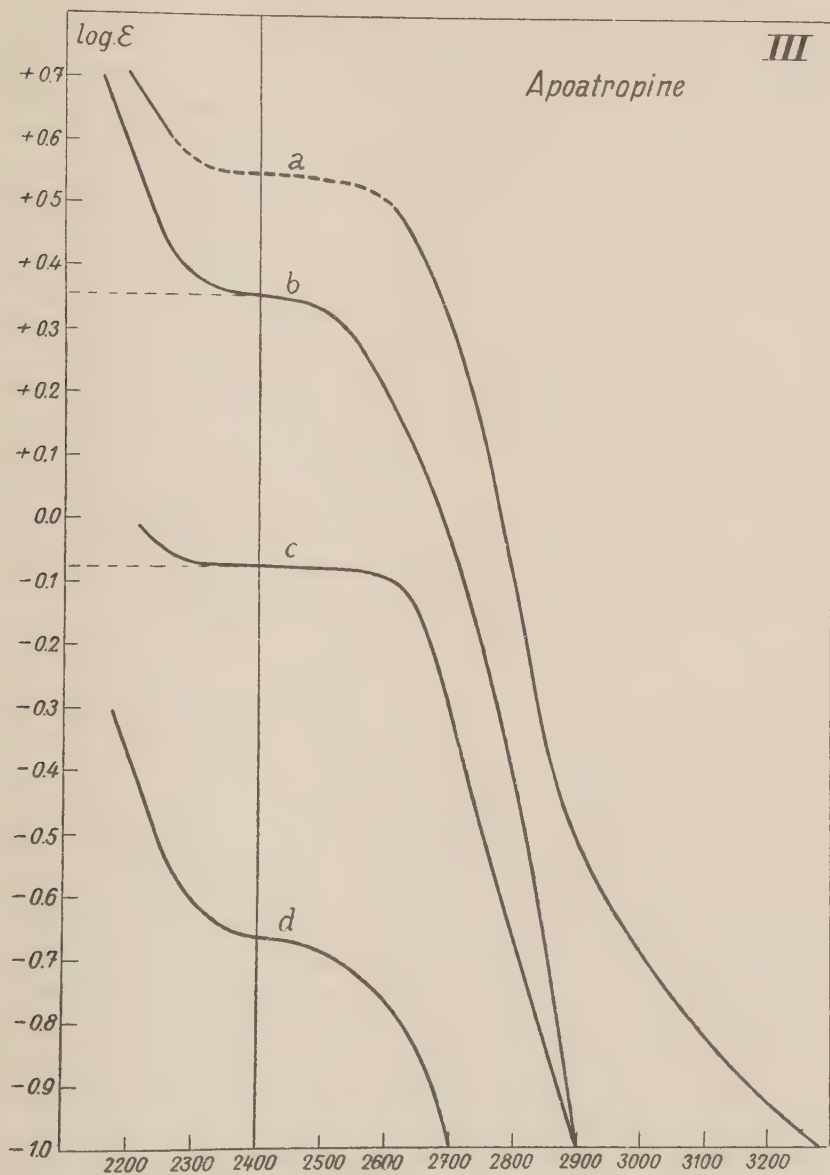
Qualitatief werd hiervan gebruik gemaakt om aan te toonen, dat er met chloroform inderdaad apootropinehydrochloride uit de op congopapier zure ($p_H \approx 2$) oplossing van de alkaloiden werd uitgeschud. Daartoe werd een willekeurig monster *Radix Belladonnae* behandeld met aether en ammonia, de aether afgedestilleerd, de rest gemengd met 20 cm.³ 0,1 N. zoutzuur en 80 cm.³ water, uitgeschud met aether en vervolgens met chloroform. De chloroform werd afgedestilleerd en de destillatierest opgenomen in water.

In de eerste plaats bleek deze oplossing

- a) met joodjoodkalium een in spiritus oplosbaar praecipitaat te geven (alkaloïde),
- b) op methyloord neutraal te reageeren (geen vrij alkaloïde),
- c) met zilvernitraatoplossing zilverchloride te vormen (zoutzuur alkaloïde).

In de tweede plaats was het spectrogram van de oplossing, die verkregen werd door, als op pag. 29, nog 10 cm.³ 0,1 N. zoutzuur toe te voegen en met water verder aan te vullen tot 100 cm.³ (kromme *a* in grafiek III), vrijwel identiek met de spectrogrammen, welke met behulp van Apootropin hydrochloric. Merck werden verkregen (grafiek I, pag. 29) en die ter vergelijking in grafiek III nog eens zijn weergegeven (*b* en *d*). Alleen verliep ook hier de kromme (*a*), evenals dat het geval was bij de spectrogrammen

van de totaal-alkaloiden uit Folia en Radix Belladonnae (grafiek II, pag. 31), bij de hogere golflengten meer horizontaal, wat we in de spectrogrammen van de zuivere alkaloiden niet opmerkten.



Aangezien curve *a* wat aan den buitenkant van de grafiek kwam te liggen, werd nog een tweede spectrogram (*c*) gemaakt van een oplossing, die verkregen werd door 10 cm.³ te verdunnen met 30 cm.³ gedestilleerd water, terwijl, om de zuurconcentratie gelijk te houden, nog 3 cm.³ 0,1 N. zoutzuur werd toegevoegd. Bij deze curve werd, om de punten van het vlak verloopende deel beter te kunnen benaderen, de sectoropening gewisseld, wat bij kromme *a* was nagelaten.

Quantitatief liet het uitgeschudde alkaloïde zich gemakkelijk berekenen. Immers, daar de afname van de intensiteit van het licht, dat door een vloeistoflaag valt, recht evenredig is met de concentratie van de oplossing, geldt de betrekking

$$E_1 : E_2 = C_1 : C_2$$

$$\log E_1 - \log E_2 = \log C_1 - \log C_2,$$

waarin $\log E$ uit de grafiek wordt afgelezen en C_2 dus kan worden bepaald, wanneer C_1 bekend is. De concentratie van oplossing *c*, berekend uit die van *b*, vinden we door middel van

$$\log E_b - \log E_c = \log C_b - \log C_c.$$

Nu was $C_b = 15$, zoodat voor $\lambda = 2400 \text{ \AA}$:

$$0,355 - (-0,075) = \log 15 - \log C_c$$

$$\log C_c = 0,74609.$$

Daar 10 cm.³ tot 43 cm.³ waren verdund, bedroeg de hoeveelheid uitgeschud apoatropine:

$$\log C_a = \log C_c + \log \frac{43}{10}; C_a = 24.$$

Langs spectrografischen weg werd dus 24 mg. apoatropine gevonden.

Om in het vervolg de hoeveelheid van het spectrografisch bepaalde apoatropine gemakkelijk te kunnen vinden, werd, uitgaande van de krommen *b* en *d* van grafiek III, een empirische schaalverdeling gemaakt (grafiek V, pag. 90). Met behulp van deze grafiek kan, uitgaande van het punt, waar het spectrogram de golflengtelijn van 2400 $\text{\AA}$ snijdt, het aantal mg. apoatropine direct worden afgelezen.

Eenvoudiger zou het zijn, op de fotografische plaat te zien, voor

welke log E, bij een golflengte van 2400 Å, in de dubbelspectra punten van gelijke zwarting worden gevonden en uit een tabelletje de met die log E corresponderende hoeveelheid apoatropine af te lezen. Practisch stuitte dit echter op bezwaren; doordat, zooals het spectrogram van het totaal-alkaloïde verschoven was t.o.v. de spectrogrammen van hyoscyamine, atropine en scopolamine (zie pag. 31), ook de absorptiecurve van het, volgens voorschrift uitgeschudde, apoatropine, beïnvloed werd door de aanwezigheid van andere, tegelijk uitgeschudde stoffen. Bij het onderzoek van de verschillende blad- en wortelmonsters kwam het vlak-verlopende gedeelte van de kromme als regel iets rechts van de 2400 Å-lijn te liggen, terwijl bovendien dit vlakke gedeelte weinig geprononceerd was (zie grafiek V, pag. 90). Door het geheele spectrogram te teekenen, kon het horizontale stuk, dat steeds, en niet de ordinaat van 2400 Å, uitgangspunt bij het vinden van de juiste hoeveelheid apoatropine vormde, gemakkelijk worden opgespoord.

Tenslotte bleek nog, bij het controleeren van de hoeveelheid apoatropine, die in elke uitschudding met chloroform overging, dat na tienmaal uitschudden één milligram van het alkaloïde in de waterige oplossing was achtergebleven. Deze kon, door nog meer keren uit te schudden, eveneens worden geïsoleerd, maar eenvoudiger als correctie in rekening worden gebracht.

c — De bepaling van belladonnine

Voor het bepalen van dit alkaloïde, waarbij zich verschillende moeilijkheden voordeden, werd de verdampingsrest van de aetherische uitschuddingen van de zoutzure oplossing der alkaloiden, na alkalisch maken met natriumcarbonaat, welke rest uit belladonnine, hyoscyamine, atropine en scopolamine bestond, met behulp van aether overgebracht in een klein bekersglasje. Na het verdampen van den aether werden de alkaloiden gewogen en verwarmd met de tienvoudige hoeveelheid tetrachloorkoolstof, waarbij belladonnine zich als bruine, voor het grootste deel tegen den wand van het bekersglas klevende druppeltjes afscheidde. De overige alkaloiden losten op, maar bij het filtreeren van de warme, tamelijk geconcentreerde oplossing kristalliseerde van het hyoscyamine-atropine weer een gedeelte langs den trechter en in het

watje, waarover het belladonnine gefiltreerd werd, uit. Dit kristallisaat nu liet zich door eenvoudig uitwasschen met tetrachloorkoolstof zeer moeilijk verwijderen, terwijl dit toch noodzakelijk was, omdat een geringe verontreiniging met hyoscyamine-atropine een groote fout kon geven in het, waarschijnlijk lage, gehalte aan belladonnine in het uitgangsmateriaal.

Ook in het filtraat waren veelal nog bruine druppeltjes te zien, die zich eveneens als regel aan den wand van het glas, waarin gefiltreerd werd, vasthechtten. Het verdiende echter geen aanbeveling het inmiddels uitgekristalliseerde hyoscyamine-atropine door verwarmen opnieuw in oplossing te brengen en nog eens te filteren, daar dan niet alleen nog meer hyoscyamine-atropine langs den trechter en in het watje uitkristalliseerde, maar ook door het verwarmen steeds meer amorphe alkaloiden ontstonden.

Daar bij het noodzakelijk uitwasschen toch de oorspronkelijke verhouding van 1 deel alkaloïde op 10 deelen tetrachloorkoolstof verloren ging, was het, zooals de ervaring leerde, beter de alkaloiden in meer tetrachloorkoolstof, b.v. de 100-voudige hoeveelheid, op te lossen, daarna af te filteren en vervolgens de tetrachloorkoolstof af te blazen tot nog 10 deelen over waren. Met deze veel meer verdunde oplossing werd uit den aard der zaak belangrijk minder last van het uitkristalliseeren van hyoscyamine-atropine ondervonden. Na 24 uur staan van het filtraat werden de uitgekristalliseerde hyoscyamine en atropine op een G_3 -filter afgezogen en de nog aan het glas klevende amorphe alkaloiden met die, welke op het watje waren achtergebleven, in chloroform opgelost en samen gewogen.

Op deze wijze werd in één van de monsters *Radix Belladonnae* 0,052 pCt. belladonnine gevonden, terwijl bij denzelfden wortel op de eerstbeschreven manier, waarbij de alkaloiden in de 10-voudige hoeveelheid tetrachloorkoolstof opgelost en meerdere malen met dit oplosmiddel verwarmd werden, 0,109 pCt. als uitkomst werd verkregen.

Voor al dit laatste cijfer was tamelijk hoog, want de wortel, waarmee hier werd gewerkt, bevatte 0,5 pCt. totaal-alkaloïde, zoodat de gevonden hoeveelheid amorphe alkaloiden hiervan 10 resp. 20 pCt. zou hebben uitgemaakt. Anderzijds was, door van denzelfden wortel direct de draaiing van het uitgeschudde totaal-

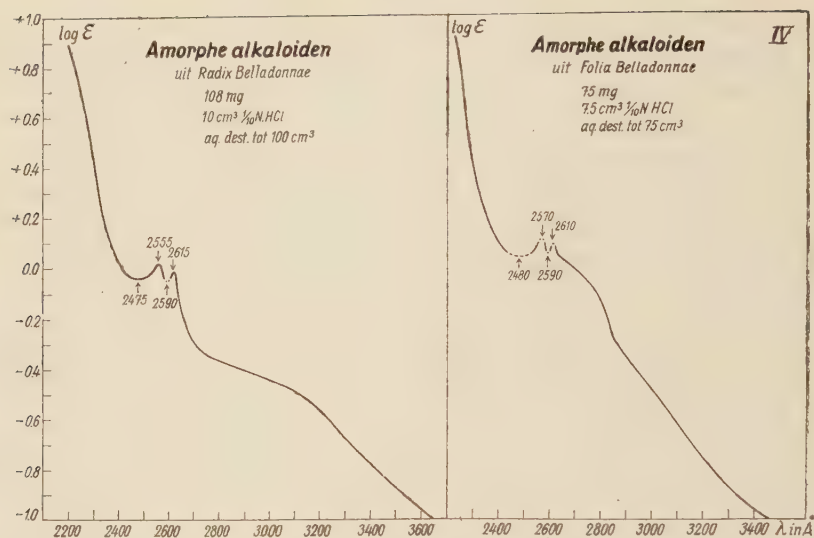
alkaloïde te bepalen, geconstateerd, dat dit totaal-alkaloïde slechts weinig verschilde van het gehalte aan optisch actieve alkaloiden, berekend als hyoscyanine. Hetgeen ook strookte met het gevonden smeltpunt van het goudzout der totaal-alkaloiden (162°) en evenzoo met literatuuropgaven, die vermelden, dat 99 pCt. van het totaal-alkaloïde uit hyoscyamine-atropine bestaat. Volgens deze opgaven blijft dan voor de overige alkaloiden 1 pCt. over, wat weer niet in overeenstemming is met de 5 pCt. apoa tropine en 5 pCt. „rest-alkaloiden”, die KÜSSNER als gemiddelde in 5 monsters *Radix Belladonnae* vond (zie pag. 15).

Bij de poging, om tot opheldering van deze tegenstrijdigheden te komen, werden de amorphe alkaloiden nader onderzocht.

Daartoe werd uitgegaan van tweemaal 75 g. *Radix Belladonnae*, die met aether en ammonia werden uitgeschud op de manier van de Zwitsersche Pharmacopce. Na $\frac{1}{2}$ uur schudden werd gefiltreerd, van de verzamelde aetherische filtraten ($\equiv 125$ g. *Radix*) de aether afgedestilleerd en apoa tropine op de boven beschreven wijze met chloroform verwijderd, waarna de overige alkaloiden door uitschudden met aether aan de met natriumcarbonaat alkalisch gemaakte oplossing werden onttrokken. De aether werd afgedestilleerd en de alkaloidenrest, ± 600 mg., door verwarming op het waterbad, in 40 g. tetrachloorkoolstof opgelost. De afgescheiden amorphe druppeltjes werden over een watje gefiltreerd en filter en kolfje met weinig tetrachloorkoolstof nagewasschen. Het watje werd vervolgens in het kolfje, aan den wand waarvan het grootste deel der amorphe alkaloiden was blijven vastkleven, op het waterbad met chloroform verwarmd, nagespoeld, de chloroform uit een weegglasje verdampt en de rest, na drogen in den exsiccator, gewogen. Deze rest, 108 mg., d.i. 18 pCt. (!) van het totaal-alkaloïde, werd opgelost in 10 cm.³ 0,1 N. zoutzuur en in een maatkolf van 100 cm.³ met gedestilleerd water tot de deelstreep aangevuld. Daarna werd de oplossing met den spectrograaf onderzocht.

Uit grafiek IV (pag. 54) zien we:

1. Het spectrogram vertoont twee toppen, van welke de meest rechtsche zijn maximum en minimum bij dezelfde golflengte heeft liggen als hyoscyamine, atropine en scopolamine, terwijl de linksche top iets naar de belladonnine-kant is verschoven (vgl. grafiek I, pag. 29):



Hyoscyamine, atropine

en scopolamine . . . maxima: 2550 Å 2610 Å
 minima: 2440 Å 2590 Å

Amorphe alkaloiden . . . maxima: 2555 „ 2615 „
 minima: 2475 „ 2590 „

Belladonnin Merck. . . maximum: 2580 „ —
 minimum: 2470 „ —

Behalve deze geringe verschuiving van de eerste top, vertoont de curve weinig overeenkomst met het spectrogram van Belladonnin Merck, dat slechts één maximum bezit. Zuiver belladonnine was dus zeker niet geïsoleerd en voorloopig verdiende de benaming „restalkaloïde”, liever „amorphe alkaloiden”, voor de afgescheiden stof de voorkeur boven „belladonnine”.

2. Het eigenaardige horizontale verloop van de kromme bij hogere golflengte, dat niet optrad in de spectrogrammen van de zuivere alkaloiden, maar dat wel naar voren kwam in de curve van het totaal-alkaloïde uit Radix en Folia Belladonnae (grafiek II, pag. 31) en eveneens in die van het niet-kristallijne apoatropine (grafiek III, pag. 49), werd hier in versterkte mate teruggevonden. Of hiervoor „de” amorphe alkaloiden of wellicht heelemaal geen alkaloiden verantwoordelijk kon worden gesteld, bleef een open vraag.

Van het filtraat der amorphe alkaloiden, dat toevallig was

blijven staan, was na eenige dagen de tetrachloorkoolstof geheel verdampt en vertoonde de alkaloidenrest weer een bruinen rand. Het gewicht van de amorphe alkaloiden, die door middel van tetrachloorkoolstof hieruit konden worden afgescheiden, bedroeg niet minder dan 132 mg., zoodat dus in totaal de onwaarschijnlijk groote hoeveelheid van 240 mg. amorphe alkaloiden, d.i. 40 pCt. van het totaal-alkaloïde, was verkregen.

In verband met het gehalte aan optisch actieve alkaloiden in den wortel drong vervolgens de vraag naar voren, hoe het met de draaiing van de amorphe alkaloiden was gesteld. De bovengenoemde 132 mg. werden daartoe opgelost in chloroform tot een totaal gewicht van 25 g. en de oplossing gepolariseerd in een buis van 2 dm. lengte. Voor de rotatie werd $-0^{\circ},38$ gevonden en voor het soort. gewicht van de oplossing 1,47. Daar 5 mg. van de 132 mg. niet in oplossing waren gegaan, bedroeg de specifieke draaiing van de amorphe alkaloiden dus:

$$a_D = \frac{-0^{\circ},38 \cdot 25}{2 \cdot 0,127 \cdot 1,47} = -25^{\circ} \quad (c = 0,75).$$

CARR en REYNOLDS¹⁾ vonden voor de specifieke rotatie van hyoscyamine in chloroform $-23^{\circ},75$ ($c = 4$) en KÜSSNER voor Hyoscyamin pur. Merck $-25^{\circ},2$ ($c = 2$).

De chloroform werd weer verdampt, de rest opgelost in zoutzuur en het alkaloïde gepraccipiteerd met goudchloride. De vloeistof werd verwarmd tot het neerslag was opgelost; bij bekoeling kristalliseerden, na even staan, goudgele, glanzende plaatjes, met een smeltpunt van 158° , uit. Na omkristalliseeren uit heet, zoutzuurhoudend water werd voor het smeltpunt 162° gevonden en de conclusie lag nu voor de hand: tijdens de bewerking was een gedeelte van het hyoscyamine in een amorphen, in tetrachloorkoolstof slecht oplosbaren vorm overgegaan.

In de voorgaande gevallen waren de amorphe alkaloiden op een dusdanige wijze, zonder extra voorzorgen te nemen, bereid, dat het niet uitgesloten moest worden geacht, dat er toch nog een geringe hoeveelheid amorphe alkaloiden in de bruine substantie, die zich later nog had afgezet, voorkwam, naast een meerderheid van „gedeformeerd” hyoscyamine-atropine. Was nu onze „bella-

1) CARR en REYNOLDS, J. Chem. Soc. **97**, II, 1336 (1910).

donnine''-bepaling juist, dan zouden de eerstgevormde druppeltjes het meerendeel van dat „belladonnine'' moeten bevatten en wel in des te zuiverder vorm, naarmate minder werd afgescheiden.

Van vier bepalingen, twee uit een wortel en twee uit een monster bladen, werd nu het zoo zorgvuldig mogelijk verkregen amorphe alkaloïde gezamenlijk opgelost in zoutzuur en geprecipiteerd met goudchloride 1 : 20. Van het neerslag, dat oranje gekleurd en weinig kristallijn van uiterlijk was, werd 72 mg. in handen gekregen, overeenkomend met 32 mg. alkaloïde, dit was gemiddeld 0,014 pCt. in de grondstof. Het smeltpunt was onscherp: 135—140°. Na omkristalliseeren uit aangezuurd water werd 27 mg. goudzout, overeenkomend met 12 mg. alkaloïde, verkregen, goudgeel en lichtglanzend van uiterlijk, met een smeltpunt van 161—162°. Werd het verlies bij het omkristalliseeren in aanmerking genomen, dan kon de gevolgtrekking worden gemaakt, dat ook hier weer overwegend hyoscyamine aanwezig was geweest. Het deel van de amorphe alkaloiden, dat niet nader kon worden gedefinieerd, maar waarvan het goudzout het uiterlijk van dat van Belladonnin Merck ten eenen male miste en dat, gezien het gevonden smeltpunt, mogelijk nog voor een deel uit atropine bestond, vertegenwoordigde zeker minder dan 0,01 pCt. van de grondstof. In verband hiermee werd bij het verdere onderzoek aan het „belladonnine'' geen aandacht meer besteed.

Wel werd nog, op dezelfde manier als dat bij den Radix was gedaan, eveneens uitgaande van 75 g. grondstof, die behandeld werden met aether en ammonia, een spectrogram gemaakt van de amorphe alkaloiden van Folia Belladonnae. Verkregen werden 39 en 36,5 mg., dit was 0,073, resp. 0,067 pCt. van de grondstof, welke met elkaar opgelost werden in 7,5 cm.³ 0,1 N. zoutzuur, waarna met water aangevuld werd tot 75 cm.³

Het beeld (grafiek IV, pag. 54) vertoonde groote overeenkomst met dat van de amorphe alkaloiden uit Radix Belladonnae:

maxima: 2570 en 2610 Å

minima: 2480 en 2590 Å.

d - De bepaling van scopolamine

Bij het omkristalliseeren van het hyoscyamine-atropine-scopolamine-mengsel uit tetrachloorkoolstof werd het scopolamine niet

quantitatief van de beide andere alkaloiden gescheiden *). Wel bleef, hetgeen door proefjes met de zuivere alkaloiden kon worden bevestigd, het scopolamine, dat in tetrachloorkoolstof goed oplosbaar en steeds in betrekkelijk geringe hoeveelheden voorhanden was, meestal geheel in de moederloog opgelost, terwijl het hyoscyamine, waarvan de oplosbaarheid in tetrachloorkoolstof 1 : 1700 bedraagt, vrijwel totaal uitkristalliseerde, maar tegelijk kon worden vastgesteld, dat van het atropine, met een oplosbaarheid van 1 : 150, een belangrijk deel in de tetrachloorkoolstof achterbleef. Werd n.l. het alkaloid uit de moederloog, na verwijderen van het oplosmiddel en toevoegen van zoutzuur, met goudchloride neergeslagen, dan werden zelden de glanzende schubjes van hyoscyamine-chloroauraat en steeds de kristallen van atropinegoudchloride, naast die van het scopolamine goudzout, waargenomen. Aangenomen, dat de alkaloiden elkaars oplosbaarheid in tetrachloorkoolstof niet beïnvloeden, kon in elke gram oplosmiddel $\pm$ 7 mg. atropine achterblijven, waaruit volgt dat er, door het geheele voorschrift te volgen, dus door tweemaal om te kristalliseeren en het kristallisaat tweemaal na te wasschen, rekening mee moest worden gehouden, dat het grootste deel van het atropine met het scopolamine in de tetrachloorkoolstof overging en bij de zuivering van het scopolamine werd verwaarloosd.

Op drie manieren, welke geen van drieën tot het beoogde doel leiden, trachtte KÜSSNER zijn scopolamine van dit atropine te bevrijden:

1°. Door de met natriumbicarbonaat alkalisch gemaakte oplossing met aether uit te schudden („ruw scopolamine”).

Scopolamine wordt, zooals op pag. 37 reeds werd geconstateerd, op deze wijze niet quantitatief uitgeschud en een deel gaat verloren. Bij zijn bepaling merkt KÜSSNER zelf op, dat het uitschudden in bicarbonaat-milieu en het neerslaan met goudchloride aanleiding geven tot een niet te vermijden verlies aan scopolamine, waardoor de grens van de hoeveelheid hiervan, die nog in 100 g. uitgangsmateriaal kon worden bepaald, 10 mg. zou zijn. Bovendien gaat ook

*) Ook petroleumaether zou, in plaats van tetrachloorkoolstof, mogelijk voor deze scheiding te gebruiken zijn — A. GORIS en P. COSTY, Bull. Sc. pharmacol., 29, 113 (1922). Zie ook tabel pag. 16.

atropine, althans gedeeltelijk, in den aether over. Uitgaande van zuiver atropine werd het laatste hier nogmaals vastgesteld.

- 2°. Door bij het praecipiteeren met goudchloride groote hoeveelheden vloeistof te gebruiken.

Atropine-chloroauraat is veel meer oplosbaar dan de overeenkomstige scopolamineverbinding, die onder de gegeven omstandigheden echter ook voor een gedeelte in oplossing bleef. Volgens POTJEWIJ¹⁾ lossen in 100 g. $\frac{1}{3}$ N. zoutzuur op:

135,7 mg. atropinegoudchloride,
87,9 mg. hyoscyaminegoudchloride,
en 77,6 mg. scopolaminegoudchloride.

- 3°. Door na 4 uur staan het neerslag reeds af te filtreeren.

Hierbij wordt aangegeven, dat het zich later nog vormende amorphe neerslag (d.i. van atropinegoudchloride, dat bij langer staan pas kristallijn wordt, vlg. pag. 25) kan worden verwaarloosd. Voor een deel sloeg dit echter toch neer, want het resulterende goudzout van KÜSSNER had een smeltpunt van 194° i.p.v. 208°.

Zoowel scopolamine als atropine werden dus volgens het gegeven voorschrift onvolledig bepaald; getracht werd, aan de hand van eenige analyses met zuivere alkaloiden, hierin verbetering te brengen. Daarbij werd steeds uitgegaan van ongeveer 300 mg. ²⁾ van een mengsel van hyoscyamine, atropine en scopolamine, waarbij de onderlinge verhouding van de alkaloiden zóó werd gekozen, als ze in de plant waarschijnlijk voorkwam, dus veel hyoscyamine naast betrekkelijk weinig atropine en scopolamine. Enkele resultaten mogen hier volgen *).

1. Aanvankelijk werd getracht, zoo weinig mogelijk hyoscyamine-atropine in den tetrachloorkoolstof te doen overgaan,

1) T. POTJEWIJ, Diss. Leiden (1934), 43.

2) Zie pag. 47.

*) Om dezelfde reden als vroeger (pag. 36) werd ook bij deze bepalingen dl-scopolamine gebruikt, terwijl ter contróle eenige analyses met *l*-scopolamine werden verricht. Verschillende resultaten werden hierbij echter niet verkregen.

om het scopolamine in zoo zuiver mogelijken vorm te verkrijgen. Met het oog daarop werd slechts eenmaal omgekristalliseerd en niet „gezuiverd” volgens KÜSSNER.

Afgewogen werden:

Hyoscyamine.	1. 303 mg.	2. 201 mg.
Atropine.	53 mg.	46 mg.
Scopolamine.	45 mg.	36 mg.

De alkaloiden werden in een met een kurk afgesloten beker-glaasje in 4, resp. 3 g. tetrachloorkoolstof, door zacht op het waterbad te verwarmen, opgelost. Na 24 uur werd de geringe hoeveelheid tetrachloorkoolstof, die verdampt was, aangevuld, de geheel vast geworden massa op een G₃-filter gebracht, de vloeistof afgezogen en het kristallisaat nagewasschen met 2 cm.³ tetrachloorkoolstof.

Het filtraat werd op het waterbad drooggedampt en de rest opgelost in eenige cm.³ 0,1 N. zuur. Ter contrôle, hoeveel alkaloiden in den tetrachloorkoolstof was overgegaan, werd de overmaat zuur op methyloord teruggetitreerd met 0,1 N. loog. Gevonden werden 28 en 48 mg. alkaloiden, waaruit volgt, dat zeker in het laatste geval niet alleen scopolamine aanwezig was, daar slechts 36 mg. was afgewogen. In het eerste geval werd, doordat van betrekkelijk veel scopolamine was uitgegaan en slechts éénmaal werd omgekristalliseerd, te weinig alkaloiden getitreerd.

Vervolgens werd uitgeschud met ammonia en chloroform, de chloroform verdampt, de rest opgelost in 2 cm.³ 0,1 N. zuur, waarna 6 druppels goudchloride (1 — 20) werden toegevoegd. De concentratie aan goudchloride in deze oplossing was ongeveer dubbel zoo groot als de door KÜSSNER gebezigde, maar door met kleinere hoeveelheden vloeistof te werken, kon met minder goudchloride worden volstaan. Na 24 uur werd het praecipitaat, telkens met behulp van de moederloog, op een klein, gehard, van te voren gewogen filter, over een kleine Büchnertrechter afgezogen, nagewasschen met een paar druppels water en gedroogd. Het gewicht van de verkregen goudzouten bedroeg 28 en 32 mg., overeenkomende met 13 en 15 mg. scopolamine *); hun smeltpunten lagen bij 206° en 207°.

*) Het moleculairgewicht van scopolamine-chloroauraat bedraagt 643, dat van scopolamine 303.

Wel was dus vrijwel zuiver scopolaminegoudchloride verkregen, maar ondanks een langere kristallisatietijd werd het alkaloïde niet quantitatief teruggevonden, terwijl het tegelijk aanwezige atropine geheel in oplossing was gebleven; de hoeveelheid toegevoegd goudchloride was blijkbaar te gering geweest om alle alkaloïde neer te slaan.

2. Bij een tweede serie bepalingen werd daarom meer reagens toegevoegd.

Door bij deze bepalingen het alkaloïde uit de tetrachloorkoolstofmoederloog van tevoren op de door KÜSSNER aangegeven wijze in bicarbonaat-milieu met aether uit te schudden, kon de onvolledigheid van deze scheiding nogmaals worden bevestigd. Uit het smeltpunt van het goudzout van het uitgeschudde alkaloïde werd de verhouding tusschen atropine en scopolamine met behulp van de op pag. 24 weergegeven grafiek afgeleid. Om te zien in hoeverre de uitkomsten wisselden, wanneer werd uitgegaan van verschillende hoeveelheden scopolamine, werd de afgewogen hoeveelheid hiervan telkens gevarieerd en de hoeveelheden hyoscyamine en atropine gelijk gehouden:

Hyoscyamine. . .	1. 250 mg.	2. 250 mg.	3. 250 mg.
Atropine.	50 mg.	50 mg.	50 mg.
Scopolamine . . .	53 mg.	26 mg.	13 mg.
Totaal (a)	353 mg.	326 mg.	313 mg.

Als voren werden de alkaloidenmengsels met de tienvoudige hoeveelheid tetrachloorkoolstof gedurende 24 uur terzijde gezet, het kristallisaat op een G₃-filter verzameld en bij 50° gedroogd tot constant gewicht, wat na een half uur was verkregen.

Pogingen om het alkaloïde, volgens het voorschrift, boven silicagel van tetrachloorkoolstof te bevrijden, hadden geen succes. Het vacuum van eenige millimeters kwik, dat met behulp van een oliepomp werd bereikt, was hiervoor waarschijnlijk niet hoog genoeg, want zelfs nadat het alkaloidenmengsel eenige dagen in een vacuumexsiccator boven versch geregenereerd silicagel had gestaan, bleek het een enkele maal nog ongeveer de helft van zijn gewicht aan tetrachloorkoolstof te hebben vastgehouden. Het was trouwens heelemaal niet duidelijk, hoe men zich voorstelde, het kristallisaat met behulp van silicagel vrij van tetrachloorkoolstof

te krijgen. Drogen bij 50–60°, nadat over een G₃-filter scherp was afgezogen, bleek geen bezwaren met zich mee te brengen.

Vervolgens werd zooveel mogelijk van de rest op het filter in 20 cm.³ Spiritus opgelost, de rotatie bepaald in een polarisatiebuis van 20 cm. en het hyoscyamine uit de draaiing berekend. Door dit getal (*c*) af te trekken van het gewicht van het kristallisaat (*b*), werd het atropine (*d*) gevonden:

Kristallisaat (<i>b</i>) . . .	1) 300 mg.	2) 278 mg.	3) 286 mg.
Hyoscyamine (<i>c</i>) . . .	252 mg.	253 mg.	252 mg.
Atropine (<i>d</i>) . . .	48 mg.	25 mg.	34 mg.

Het tetrachloorkoolstof-filtraat werd weer drooggedampt, de rest opgelost in 1 cm.³ Spiritus, de oplossing verdund met 10 cm.³ water en het alkaloïde getitreerd met 0,1 N. zuur en methyloïd als indicator. Gevonden werd:

(<i>e</i>) . . .	1) 52 mg.	2) 51 mg.	3) 29 mg.,
--------------------	-----------	-----------	------------

terwijl uit de totaal-hoeveelheid afgewogen alkaloïde (*a*) en het gewicht van het kristallisaat (*b*) berekend kon worden (*a*–*b*):

1) 353—300	2) 326—278	3) 313—286
= 53 mg.	= 48 mg.	= 27 mg.

wat behoorlijk met elkaar klopte.

De getitreerde vloeistof werd nu zuur gemaakt en eenige malen uitgeschud met aether om den indicator te verwijderen; daarna werd, evenals vroeger (pag. 37), 2 cm.³ van een verzadigde oplossing van natriumbicarbonaat toegevoegd, driemaal met 20 cm.³ aether uitgeschud, de aether afgedestilleerd en de rest op dezelfde wijze als boven getitreerd.

Gevonden: (<i>f</i>) . . .	1) 40 mg.	2) 30 mg.	3) 22 mg.
------------------------------	-----------	-----------	-----------

Vervolgens werd het alkaloïde uit de getitreerde vloeistof weer in vrijheid gesteld met ammonia en uitgeschud met chloroform, deze verdampt, de rest opgelost in 2 cm.³ 0,1 N. HCl en de oplossing gemengd met 15 druppels goudchloride (1 = 20). Na 24 uur kristalliseeren werd het gewicht van het verkregen goudzout bepaald:

Goudzout	1) 86 mg.	2) 67 mg.	3) 50 mg.
Alkaloïde (<i>g</i>). . . .	40 mg.	32 mg.	23 mg.

Deze getallen stemden goed overeen met het titrimetrisch be-

paalde alkaloïde (*i*), waaruit volgt, dat onder de gegeven omstandigheden het alkaloïde quantitatief met goudchloride werd gepraecipiteerd.

Uit de smeltpunten der goudzouten, die in alle drie gevallen verschillend waren, nl.

1) 205° 2) 198—199° 3) 174°,

werd door middel van de kromme op pag. 24 voor de samenstelling van het gepraecipiteerde alkaloidenmengsel gevonden:

Scopolamine .	1) 38 mg.	2) 24 mg.	3) 11 mg.
Atropine (<i>h</i>) .	2 mg.	8 mg.	12 mg.

en het totaal-resultaat van de geheele analyse was dus:

	1) afge- wogen	terug- gev.	2) afge- wogen	terug- gev.	3) afge- wogen	terug- gev.
Hyoscyamine (<i>c</i>)	250 mg.	252 mg.	250 mg.	253 mg.	250 mg.	252 mg.
Atropine (<i>d+h</i>)	50 mg.	50 mg.	50 mg.	33 mg.	50 mg.	46 mg.
Scopolamine	53 mg.	38 mg.	26 mg.	24 mg.	13 mg.	11 mg.
Totaal	353 mg.	340 mg.	326 mg.	310 mg.	313 mg.	309 mg.

Het gevonden tekort aan alkaloïde:

1) 13 mg. 2) 16 mg. 3) 4 mg.,

dat bij het uitschudden met bicarbonaat-aether in de waterige vloeistoflaag was achtergebleven, liet zich ook berekenen als het verschil tusschen de twee titraties (*e* en *f*) op pag. 61:

(<i>e-f</i>) 1) 52—40	2) 51—30	3) 29—22
= 12 mg.	= 21 mg.	= 7 mg.

De juiste samenstelling had, wat hier achterwege werd gelaten, weer gevonden kunnen worden uit het smeltpunt van het chloroauraat, nadat het alkaloïde met ammonia en chloroform was uitgeschud.

Waren de uitkomsten al veel beter dan bij de voorgaande analyses, de bepaling leek nog vereenvoudigd te kunnen worden door het alkaloïde uit het tetrachloorkoolstof-filtraat in zijn geheel met goudchloride te praecipiteeren en het smeltpunt te bepalen, daar bij het uitschudden met aether-bicarbonaat toch geen zuiver scopolamine werd verkregen en bovendien een deel van het alkaloïde in de waterige oplossing achterbleef. Bij een volgende analyse werd aldus te werk gegaan.

3. Afgewogen:

Hyoscyamine (a) . . .	1) 250 mg.	2) 250 mg.	3) 250 mg.	4) 250 mg.
Atropine	32 mg.	34 mg.	34 mg.	32 mg.
Scopolamine	28 mg.	35 mg.	24 mg.	28 mg.
Totaal	309 mg.	319 mg.	308 mg.	310 mg.

Om vooral te vermijden, dat er scopolamine in het kristallisaat achterbleef, werd tweemaal uit de tienvoudige hoeveelheid tetrachloorkoolstof omgekristalliseerd en het kristallisaat weer bij 50° gedroogd. Van het gedroogde alkaloïde werd in een Erlenmeyer-kolfje zooveel mogelijk in chloroform opgelost tot een totaal gewicht van 25 gram, waarna de rotatie in een buis van 20 cm. *), het soortelijk gewicht met een pycnometer en de juiste hoeveelheid opgelost alkaloïde door titratie werden bepaald. Voor deze laatste bepaling werd de polarimeterbuis weer geleidigd in het kolfje met de rest van de oplossing, het kolfje met inhoud opnieuw gewogen, de oplossing met chloroform overgespoeld in een extractiekolfje en de chloroform, na toevoeging van een overmaat 0,1 N. zuur, afgedestilleerd. De rest werd verdund met 25 cm.³ gedestilleerd water en het zuur teruggetitreerd met 0,1 N. loog en methylrood als indicator (Zwitserse Pharm.) **). Rotatie- en titratiecijfer werden omgerekend op het oorspronkelijk gevonden gewicht van het kristallisaat:

Gewicht v. h. kristal-

lisaat	1) 277 mg.	2) 267 mg.	3) 283 mg.	4) 269 mg.
Hiervan afgewogen . . .	272 mg.	263 mg.	278 mg.	262 mg.
Rotatie	—0°,63	—0°,64	—0°,64	—0°,63
Soort. gewicht	1,465	1,465	1,465	1,465
Hyoscyamine	246 mg.	248 mg.	248 mg.	246 mg.
Hyoscyamine (omge-				
rekend) (b).	251 mg.	252 mg.	253 mg.	253 mg.
Getitreerd (omge-				
rekend)	253 mg.	252 mg.	260 mg.	255 mg.
Atropine (c)	2 mg.	0 mg.	7 mg.	2 mg.

*) Door op deze wijze te werk te gaan, werd de draaiing van een oplossing, die 250 mg. hyoscyamine bevatte, van 0°,50 op 0°,65 gebracht en werd de nauwkeurigheid van de hyoscyaminebepaling iets grooter: elke honderdste graad, die op de bij het onderzoek gebruikte halfschaduw polarimeter nog kon worden afgelezen, wees 4 mg. hyoscyamine aan.

**) Deze heele bewerking werd eerst met Hyoscyamin Merck uitgevoerd,

De hoeveelheid hyoscyamine, waarvan was uitgegaan (*a*), werd ook hier goed benaderd (*b*). ¹⁾

Het tetrachloorkoolstof-filtraat werd weer drooggedampt, de rest opgelost in 3 cm.³ 0,1 N. HCl en aan de oplossing goudchloride, zekerheidshalve een flinke overmaat, n.l. 30 druppels, toegevoegd. Na 24 uur werd het neerslag afgefiltreerd, gedroogd, gewogen en het smeltpunt bepaald:

Gewicht van het	1) 101 mg.	2) 111 mg.	3) 107 mg.	4) 93 mg.
goudzout.				
Alkaloïde.	47 mg.	52 mg.	50 mg.	44 mg.
Smeltpunt van het				
goudzout.	158—159°	158—159°	159°	159°

Met behulp van de smeltpuntscurve werd hieruit berekend:

Scopolamine	1) 20 mg.	2) 22 mg.	3) 22 mg.	4) 19 mg.
Atropine (<i>d</i>)	27 mg.	30 mg.	28 mg.	25 mg.

en het resultaat van de analyse was dus:

	1) afge- wogen	terug- gev.	2) afge- wogen	terug- gev.	3) afge- wogen	terug- gev.	4) afge- wogen	terug- gev.
Hyoscyamine (<i>b</i>) . . .	250 mg.	251 mg.	250 mg.	252 mg.	250 mg.	253 mg.	250 mg.	253 m
Atropine (<i>c</i> + <i>d</i>). . .	31 mg.	29 mg.	34 mg.	30 mg.	34 mg.	35 mg.	32 mg.	27 m
Scopolamine	28 mg.	20 mg.	35 mg.	22 mg.	24 mg.	22 mg.	28 mg.	19 m
Totaal	309 mg.	300 mg.	319 mg.	304 mg.	308 mg.	310 mg.	310 mg.	299 m

Behalve in geval 3) werd voor scopolamine een niet-verwacht tekort gevonden. Dit verlies zou o.m. kunnen worden verklaard uit een te laag gevonden smeltpunt van het goudzout doordat b.v. ook hyoscyamine in het tetrachloorkoolstof-filtraat was overgegaan. Hoewel zulks bij de laatste analyse niet het geval was, daar uit de polarisatie een juiste waarde voor het hyoscyamine

waarbij juiste uitkomsten werden verkregen. Van dit hyoscyamine werd de specifieke draaiing bepaald door, uitgaande van 250 mg., eveneens met chloroform aan te vullen tot 25 gram. Voor eenige verschillende monsters werd gevonden: — 21°,7; — 22°,3; — 21°,8; — 21°,8; — 21°,6. Van het laatste monster daalde de spec. draaiing na éénmaal omkristalliseeren uit tetrachloorkoolstof tot — 22°,2; na tweemaal omkristalliseeren tot — 22°,4.

1) Een constant gewicht was blijkbaar niet verkregen, want het gewicht van het kristallisaat was in alle vier gevallen grooter dan de som van het teruggevonden hyoscyamine en atropine. Door de contrôletitratie kon dit hier geen aanleiding tot fouten geven.

was teruggevonden, werd toch de mogelijkheid van een dergelijke smeltpuntsverlaging nog onderzocht. Dat deze smeltpuntsverlaging kon optreden, bleek bij een analyse, die, geheel analoog aan de voorgaande, uitgevoerd werd met:

Hyoscyamine.	1) 249 mg.	2) 229 mg.
Scopolamine.	36 mg.	40 mg.

waarbij het oorspronkelijk de bedoeling was, te zien, of alle scopolamine onder de gegeven omstandigheden wel volledig in de tetrachloorkoolstof overging. Bij het neerslaan van het alkaloïde met goudchloride kristalliseerden uit de warme zoutzure oplossing glanzende plaatjes van hyoscyaminechlorocauraat, wat bij vorige analyses nooit was voorgekomen. De hoeveelheid goudzout, die verkregen werd, bedroeg in beide gevallen 98 mg., overeenkomende met 47 mg. alkaloïde, meer dus dan aan scopolamine was afgewogen. De smeltpunten waren 171° en 182° , wat dus eveneens de verontreiniging van het scopolamine duidelijk demonstreerde.

Werden nu echter eenige mengsels van hyoscyamine en atropine, zonder scopolamine, op precies dezelfde wijze behandeld, dan bleek er geen hyoscyaminegoudchloride uit te kristalliseeren en het smeltpunt van het resulterende goudzout was dienovereenkomstig in alle drie onderzochte gevallen 138° . Atropine scheen dus op de oplosbaarheid van hyoscyamine in den zin der quantitatieve bepaling een gunstigen invloed uit te oefenen:

Afgewogen:

Hyoscyamine.	1) 250 mg.	2) 233 mg.	3) 245 mg.
Atropine.	32 mg.	60 mg.	31 mg.
Totaal.	282 mg.	293 mg.	276 mg.

Teruggevonden:

Kristallisaat (getitreerd). . .	1) 262 mg.	2) 272 mg.	3) 258 mg.
Hyoscyamine (gepolari- seerd) (a)	253 mg.	242 mg.	250 mg.
Atropine (verschil) (b). . .	9 mg.	30 mg.	8 mg.
Gewicht van het goudzout	42 mg.	37 mg.	36 mg.
Alkaloïde (c)	19 mg.	17 mg.	16 mg.
Smeltpunt van het goud- zout.	138°	138°	138°

Omgerekend:

Hyoscyamine (a)	1) 253 mg.	2) 242 mg.	3) 250 mg.
Atropine (b+c).	28 mg.	47 mg.	24 mg.
Totaal.	281 mg.	289 mg.	274 mg. *)

Daar bij deze analyses geen verlies aan alkaloïde optrad, kon bij de voorgaande bepalingen, gedachtig aan de vorming van de amorphe alkaloiden (zie pag. 51), het tekort aan scopolamine wellicht op ontleding tijdens het herhaaldelijk verwarmen met tetrachloorkoolstof worden teruggevoerd. Met het oog daarop werd dan ook in den vervolge onnoodig verwarmen vermeden en slechts eenmaal uit tetrachloorkoolstof omgekristalliseerd. Wat betreft de hoeveelheid scopolamine, die bij analyses met plantenmateriaal in het geëxtraheerde alkaloidenmengsel werd gevonden, deze bedroeg in geen enkel geval meer dan 15 mg., zoodat dit geen bezwaar tegen het eenmaal omkristalliseeren vormde.

Er kon nog bij analyse 3 (pag. 64) worden opgemerkt, dat het smeltpunt van het goudzout (159°) door het tweemaal omkristalliseeren, waarbij meer atropine in de tetrachloorkoolstof overging, en door niet uit te schudden met bicarbonaat-aether, veel lager was dan bij de voorgaande bepalingen. Beter dan de alkaloiden uit het tetrachloorkoolstof-filtraat gezamenlijk als goudzout neer te slaan, kon de zoutzure oplossing van deze alkaloiden dan tóch achtereenvolgens uitgeschud worden met bicarbonaat-aether en ammonia-chloroform, waarna het alkaloïde van beide uitschuddingen met goudchloride gepraecipiteerd en het smeltpunt bepaald werd. Bij deze partieele scheiding ging n.l. in de eerste uitschudding relatief veel scopolamine over, waardoor dit alkaloïde zich door middel van het smeltpunt quantitatief nauwkeuriger laat bepalen en zich in plantaardige producten, vooral omdat het als regel om slechts enkele milligrammen alkaloïde ging, kwalitatief scherper laat aantoonen.

4. Het laatste werd nog geverifieerd aan eenige mengsels van atropine en scopolamine. Omdat bij het praecipiteeren met goudchloride een enkele maal was geconstateerd, dat uit een oplossing,

*) 2) en 3) geven een voorbeeld van de fout, die bij het polariseeren gemaakt kon worden: bij 2) werd 9 mg. en bij 3) 5 mg. hyoscyamine te veel gevonden. Voor atropine werd de relatieve fout veel grooter.

die alleen atropine bevatte, na 24 uur staan niets uitkristalliseerde, werd bij deze en volgende bepalingen een kristallisatietijd van tenminste 48 uur in acht genomen (vgl. pag. 25).

Uitgegaan van:

Atropine.	1) 40 mg.	2) 30 mg.	3) 50 mg.
Scopolamine	14 mg.	7 mg.	32 mg.

Na uitschudden met bicarbonaat-aether:

Gewicht van het goudzout	1) 37 mg.	2) 22 mg.	3) 55 mg.
Alkaloïde.	18 mg.	10 mg.	26 mg.
Smeltp. van het goudzout.	170°	168°	187°
Percentage scopolamine . .	45	45	60
Atropine (a)	10 mg.	6 mg.	11 mg.
Scopolamine (b).	8 mg.	4 mg.	15 mg.

Na uitschudden met ammonia-chloroform:

Gewicht van het goudzout	1) 75 mg.	2) 56 mg.	3) 114 mg.
Alkaloïde.	37 mg.	26 mg.	52 mg.
Smeltp. van het goudzout.	140°,5	140°,5	141°,5
Percentage scopolamine . .	15	15	35
Atropine (c)	31 mg.	22 mg.	34 mg.
Scopolamine (d).	6 mg.	4 mg.	18 mg.

Resultaat:

	1) ge- geven	terug- gev.	2) ge- geven	terug- gev.	3) ge- geven	terug- gev.
Atropine (a+c). . .	40 mg.	41 mg.	30 mg.	28 mg.	50 mg.	45 mg.
Scopolamine (b+d) .	14 mg.	14 mg.	7 mg.	8 mg.	32 mg.	33 mg.
Totaal.	54 mg.	55 mg.	37 mg.	36 mg.	82 mg.	78 mg.

Deze uitkomsten waren zeer bevredigend: zoowel van atropine en scopolamine als van het totaal aanwezig alkaloïde werden de gegeven hoeveelheden goed benaderd, terwijl voor het smeltpunt van het onzuivere scopolaminegoudzout, na uitschudden met bicarbonaat-aether, een waarde werd gevonden, voldoende hoog om het alkaloïde kwalitatief met zekerheid aan te toonen.

Aansluitend worden de resultaten gegeven van het onderzoek op scopolamine bij de negentien in het onderzoek betrokken monsters *Radix Belladonnae*. Voor het volledige analysevoorschrift moge worden verwezen naar pag. 84.

Anal. nr.	Gepraecipiteerde chloroauraat		
	uit aether-bicarbonaat		uit aether-NH ₃
	gewicht	smeltpunt	smeltpunt
1	*	138°	138°
2	*	138°	138°
3	1 mg.	180—185°	138°
4	1 mg.	160°	138°
5	2 mg.	152—155°	138°
6	3 mg.	152—153°	138°
7	0,5 mg.	150°	138°
8	—	—	139°
9	4 mg.	147°	135°
10	2 mg.	160°	140°
11	0,5 mg.	166—167°	136°
12	*	138°	138°
13	—	—	138°
14	—	—	138°
15	1,5 mg.	155—160°	137°
16	*	139°	138°
17	3,5 mg.	159—160°	154° (32 mg.)
18	9 mg.	157°	138°
19	1 mg.	156°	154° (28 mg.)

Toelichting:

Bij enkele monsters (nos. 8, 13 en 14) kristalliseerde uit de met goudchloride bedeelde oplossing van het alkaloïde, dat met aether-bicarbonaat was uitgeschud, ook na lang staan, niets uit; bij enkele andere monsters (nos. 1, 2, 12 en 16) bleek het op deze wijze verkregen alkaloïde geheel uit atropine (sm.p. chloroauraat 138°) te bestaan. Al deze wortels bevatten dus geen scopolamine.

Bij een tweede aantal monsters werd een smeltpunt gevonden tusschen 138° en 163° (sm.p. hyoscyaminegoudchloride). Voor deze wortels zou dus het chloroauraat, behalve uit een mengsel van atropine-scopolamine, ook uit atropine-hyoscyamine hebben kunnen bestaan (vgl. pag. 65). Echter werden in geen enkel van deze gevallen de karakteristieke plaatjes van hyoscyaminegoudchloride waargenomen, terwijl wel de lichtgele, snel uitkristalliseerende,

*: het gewicht had voor de scopolamine bepaling geen beteekenis, daar het praecipitaat geheel uit atropine-chloroauraat bestond.

—: niets uitgekristalliseerd.

veervormige kristallen steeds aan scopolaminechloroauraat deden denken. Scopolamine was hier dus met zeer groote waarschijnlijkheid aangetoond.

Tenslotte was er voor twee wortelsoorten (nos. 3 en 11), waarbij het smeltpunt boven 163° lag, omtrent het aanwezig zijn van scopolamine geen twijfel mogelijk.

3 — AANVULLING OP DE BEPALING IN VERBAND MET ANALYSES VAN HET PLANTENMATERIAAL

a — De bepaling van de optisch actieve alkaloiden

Rekening houdend met de in het voorgaande aangegeven verbeteringen, werden eenige volledige analyses met *Radix Belladonnae* verricht. De resultaten waren echter weinig bevredigend: de dublobepalingen klopten slecht en verder bleek bij deze bepalingen het totaal-alkaloïde slechts voor ± 70 pCt. uit hyoscyamine te bestaan. Een verder onderzoek naar de bepaling van de optisch actieve alkaloiden was dus noodzakelijk.

Getracht werd deze alkaloiden, die ten slotte toch ook het belangrijkste bestanddeel van de *Belladonna* vormen, direct te bepalen. Bij het volgende voorschrift werd het totaal-alkaloïde, zonder vooraf het apoatropine met chloroform uit te schudden (zie pag. 42), geëxtraheerd op de wijze van de Zwitsersche Pharmacopee (zie pag. 45). De rest werd, na drogen, zonder eerst om te kristalliseeren uit tetrachloorkoolstof, opgelost in chloroform en het gehalte aan optisch actieve alkaloiden uit de rotatie gevonden. Door titratie van het gepolariseerde alkaloïde werd het totaal-alkaloïde bepaald:

„Schud 75 gram *Radix Belladonnae* (B_{40}) met 750 gram „aether en 25 cm.³ ammonia (5 pCt.) gedurende een half uur.
„Filtreer, droog het filtraat een half uur boven uitgedroogd „natriumsulfaat en filtreer nog eens. Destilleer den aether af „tot nog weinig vloeistof over is en verwijder de rest door „blazen. Meng het overgeblevene met 20 cm.³ 0,1 N. zout- „zuur tot zure reactie op congopapier, breng alles met behulp „van 80 cm.³ water en 100 cm.³ aether over in een scheitrechter „en schud vijfmaal uit met telkens 100 cm.³ aether”.

Deze aetherische uitschuddingen worden verder niet gebruikt.

Totaal alkaloïde gewogen. „Schud de waterige oplossing, na toevoeging van 10 gram *Carbonas natricus*, weer vijfmaal uit „met 100 cm.³ aether, destilleer den aether af, breng de rest „met weinig aether over in een bekglaasje van 50 cm.³, „verdamp ook dezen aether en droog in den exsiccator tot „constant gewicht”.

Totaal optisch actief alkaloïde. „Los het alkaloïde op in chloroform „tot een totaal gewicht van 25 gram, vul met deze oplossing „een polarimeterbuis van 20 cm. en bepaal de rotatie (α) „en het spec. gewicht (d) van de vloeistof. De hoeveelheid „optisch actief alkaloïde in 25 g. oplossing is dan:

$$\frac{\alpha \cdot 25}{2 \cdot [\alpha_D] \cdot d} \text{ gram}.$$

Totaal alkaloïde getitreerd. „Brenge de oplossingen uit polarimeterbuis en pycnometer met behulp van chloroform quantitatief „over in een extractiekolfje. Voeg 15 cm.³ 0,1 N. zoutzuur „toe, destilleer de chloroform af en titreer, na toevoeging van „25 cm.³ gedestilleerd water en 10 druppels methylood, de „overmaat zuur met 0,1 N. loog tot gele kleur terug. „Elke cm.³ 0,1 N. zuur $\equiv$ 0,0289 g. alkaloïde”.

Door van het totaal alkaloïde het gehalte aan optisch actief alkaloïde af te trekken, werd het totaal aan optisch inactieve alkaloiden berekend.

Volledigheidshalve moge erop worden gewezen, dat tegelijk met hyoscyamine, ook andere optisch actieve alkaloiden, met name scopolamine, werden mee-bepaald. Door het totaal aan optisch actieve alkaloiden te verminderen met het later te vinden gehalte aan scopolamine, werd het eigenlijke hyoscyaminegehalte verkregen. Daar de specifieke draaiing van beide alkaloiden slechts weinig uiteenloopt en scopolamine als regel slechts in uiterst geringe hoeveelheden in *Atropa Belladonna* voorkomt, werd door deze gecombineerde bepaling geen fout van beteekenis gemaakt in het te vinden gehalte aan hyoscyamine.

De voor het polariseeren gebruikte oplossing in chloroform was niet altijd helder. Er werd dan gefiltreerd door een droog filtertje, de oplossing met het gebezigde glaswerk vóór en na het filteren gewogen en de verdampte chloroform in rekening gebracht.

Gevonden werden de volgende getallen voor een monster *Radix Belladonnae* met een totaal-alkaloidengehalte van 0,480 pCt. (Zw. Pharm.):

	1)	2)	3)	4)	gem.
Totaal gewogen.	0,425	0,413	0,414	0,414	0,416
„ getitreerd	0,412	0,403	0,402	0,403	0,405
Vershil	0,013	0,010	0,012	0,011	0,011
Totaal optisch ⁷ actief	0,319	0,306	0,327	0,377	0,332
Totaal optisch inactief (gewogen)	0,106	0,107	0,087	0,037	0,084
„ „ „ (getitreerd)	0,093	0,097	0,075	0,026	0,073

Opvallend hierbij waren:

a) Het verschil tusschen het gevonden totaal-alkaloidengehalte en dat, bepaald volgens de Zwitsersche Pharmacopee.

Gedacht werd aan de vluchtige basen in de *Belladonna*, die bij de gehaltebepaling der Zwitsersche Pharm. minder volledig zouden worden verwijderd, dan volgens het gegeven voorschrift het geval was (zie verder pag. 74). Opgemerkt zij, dat de Zw. Pharm. in haar voorschrift terdege rekening houdt met deze alkaloiden en ze tracht te verwijderen door, na afdestilleeren van den voor het uitschudden van de grondstof gebruikten aether, de alkaloidenrest nog tweemaal met aether af te dampen en daarna op een bepaaldelijk voorgeschreven wijze met Spir. fort. te verwarmen. De vluchtige basen worden echter niet volledig verdreven en er wordt dan ook niet getitreerd tot de indicator omslaat, maar tot gele kleur van de oplossing (zie pag. 45).

b) Het betrekkelijk lage gehalte aan optisch actieve alkaloiden (gem. 82 pCt. van het totaal getitreeerde alkaloiden) en de toch nog onregelmatige uitkomsten hierbij.

Gedeeltelijk bleek dit te worden veroorzaakt door de racemiseerende werking van het bij het uitschudden der alkaloiden gebezigde natriumcarbonaat. Werd n.l. bij hetzelfde wortelmonster ammonia (28 pCt.) in plaats van *Carbonas natricus* gebruikt, dan werden geheel andere getallen verkregen:

	1)	2)	3)	4)	gem.
Totaal gewogen.	0,409	0,403	0,411	0,413	0,409
„ getitreerd	0,393	0,389	0,380	0,399	0,390
Vershil	0,016	0,014	0,031	0,014	0,019
Totaal optisch actief	0,376	0,384	0,379	0,378	0,379
„ „ inactief (gewogen)	0,033	0,019	0,032	0,035	0,030
„ „ „ (getitreerd)	0,017	0,005	0,001	0,021	0,011

De hier gevonden waarden waren, tenminste voor zoover het de optisch actieve alkaloiden betrof (97 pCt. van het totaal-getitreerde alkaloïde), bevredigend.

b – De titratie der alkaloiden

Weinig bevredigend waren in bovenstaande tabel de uitkomsten voor het optisch inactief alkaloïde, berekend uit het titratiecijfer. Immers, werd van de hiervoor gevonden waarde bij 2) en 3) het percentage apootropine (spectrografisch was 0,010 pCt. gevonden) afgetrokken, dan bleef voor het gehalte aan atropine een negatief getal over. De titratie wees een hoeveelheid alkaloïde aan, die niet in overeenstemming was met de werkelijkheid.

In verband hiermee werd een nieuwe serie bepalingen verricht met een ander monster *Radix Belladonnae*, waarvan het totaal-alkaloidengehalte volgens de Zw. Pharm. 0,415 pCt. bedroeg. Het apootropine, waarvan de wortel 0,006 pCt. bleek te bevatten, werd door uitschudden met chlorotorm bepaald, behalve in de gevallen 3) tot en met 6), waarbij het van de gewogen en getitreerde totale hoeveelheid alkaloïde werd afgetrokken. Scopolamine was in dezen wortel niet aanwezig.

Resultaten:

	1)	2)	3)	4)	5)	6)
Hyosc. + atrop. (gewogen)	0,297	0,328	0,299	0,304	0,319	0,316
„ „ (getitr.)	0,265	0,281	0,253	0,253	0,312	0,314
Verschil	0,032	0,047	0,046	0,051	0,007	0,002
Hyoscyamine (gepol.) . . .	0,267	0,280	0,278	0,277	0,284	0,291
Atropine (gewogen)	0,030	0,048	0,021	0,027	0,035	0,025
„ (getitr.)	0,002	0,001	-0,025	-0,024	0,028	-0,023
Kleur v. d. alkal.rest . . .	geel	geel	geel	geel	geelbruin	
Reuk „ „ „	naar pyridine		naar pyridine		sterk naar pyridine	
Omslag v. d. indicator	langzaam		langzaam		langzaam	
Titreervloeistof						
gemaakt door... . . .	Chl. afgedest.,		Chl. afgedest.,		uitgeschud met	
	zuur		zuur		zuur	
	toegevoegd		toegevoegd			

	7)	8)	9)	10)	11)	12)
Hyosc. + atrop. (gewogen)	0,333	0,336	0,334	0,339	0,332	0,330
„ (getitr.)	—	—	—	—	0,319	0,306
Vershil	—	—	—	—	0,013	0,024
Hyoscyamine(gepol.) . . .	0,297	0,299	0,302	0,306	0,290	0,308
Atropine (gewogen)	0,036	0,037	0,032	0,033	0,042	0,022
„ (getitr.)	—	—	—	—	0,029	-0,002
Kleur v. d. alkalf.rest . . .	bruin	bruin	bruin	bruin	lichtgeel	
Reuk „ „ „	zeer sterk naar pyridine		zeer sterk naar pyridine		naar aethyl- acetaat	
Omslag v. d. indicator . .	zeer langzaam omslagtraject $\pm 1 \text{ cm.}^3$ uitkomst te laag		zeer langzaam omslagtraject $\pm 1 \text{ cm.}^3$ uitkomst te laag		langzaam omslagtraject $\pm 0,2 \text{ cm.}^3$	
Titreervloeistof gemaakt door	uitgeschud met zuur		zuur toegevoegd, Chl. afgedest.		zuur toegevoegd, Chl. afgedest.	

Er kon worden opgemerkt:

1e. Dat in de gevallen 3) tot en met 6) voor hyoscyamine + atropine (gewogen) en ook, zij het minder duidelijk, voor het gehalte aan hyoscyamine alleen, lagere waarden werden gevonden dan in de overige gevallen. Zie hiervoor verder pag. 80.

2e. Dat het scherp omslaan van den indicator bij de titratie niet afhankelijk was van de wijze, waarop de titreervloeistof werd gemaakt, maar dat dit parallel liep met uiterlijk en kleur van de alkaloidenrest.

Nu geven de nummers in de tabel ook de chronologische volgorde, waarin de bepalingen werden verricht, weer. Opvallend daarbij was, dat elke volgende bepaling een steeds minder scherp en omslag bij de titratie en een steeds sterkere verontreiniging van het afgescheiden alkaloïde te zien gaf. Deed de pyridineachtige reuk van de alkaloidenrest al direct den aard van de verontreiniging vermoeden, de oorzaak van het steeds sterker worden ervan was achteraf gemakkelijk op te sporen. Zuinigheidshalve werd n.l. voor het uitschudden van de grondstof telkens aether gebruikt, die bij een voorgaande analyse was afgedestilleerd. Deze aether bevatte vluchtige basen, die bij het destilleeren gedeeltelijk in het

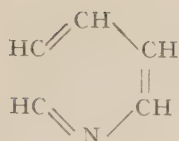
destillaat overgingen, gedeeltelijk ook niet werden afgedestilleerd. Tenslotte hoopten de minst vluchtige basen zich steeds meer op in den aether, uit de oplossing waarvan uiteindelijk het totaal-alkaloïde resulteerde. Te meer nog was dit het geval, omdat de laatste hoeveelheid aether uit voorzorg tegen ontleding spontaan verdampte, liever dan dat de oplossing tot droog werd afgedestilleerd, waarbij echter mogelijk meer van de verontreinigingen zouden zijn verwijderd.

Dat de slechte uitkomsten bij de titratie inderdaad samenhangen met de aanwezigheid van deze vluchtige alkaloiden, werd aannemelijk gemaakt, doordat een analyse van denzelfden wortel, uitgevoerd met „schoonen” aether — 11) en 12) —, naast een veel minder verontreinigde rest, een beteren omslag bij de titratie te zien gaf. Maar ook bij deze bepaling was het omslagtraject toch te groot, om niet te trachten op andere wijze het totaal van de kristallijne alkaloiden te benaderen, om zoo het gehalte aan atropine met zekerheid te kunnen berekenen. Het gewogen totaal-alkaloïdegehalte was hiervoor geen goede maatstaf. Wel was dit, zooals de beide voorgaande tabellen beter dan de laatste aantoonen, een tamelijk constant getal, evenals het verschilcijfer met het totaal getitreerde alkaloïde, maar dit verschil, dat bij de voorgaande bepalingen slechts als een contrôle op de titratie gebruikt werd, kon toch moeilijk als empirische factor bij de bepaling worden ingevoerd.

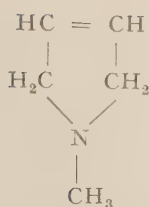
c — De vluchtige basen bij het quantitatief onderzoek

GORIS en LARSONNEAU ¹⁾ onderwierpen deze stoffen, uitgaande van een groote hoeveelheid Belladonnabladeren, aan een uitgebreid onderzoek. Bij uitschudden van de zwavelzure oplossing van het totaal der basische bestanddeelen uit de grondstof met natriumcarbonaat en aether, gingen in den aether, behalve de vaste, kristallijne alkaloiden, alle aromatische vluchtige verbindingen over, naast slechts een gering deel der alifatische, stikstofhoudende verbindingen. Van de laatste, waarvan het voornaamste bestanddeel een diamine, waarschijnlijk het tetramethyldiaminobutaan (kpt. 168°) was, bleef het grootste deel in de waterige oplossing achter. In de aetherische oplossing konden worden aangetoond:

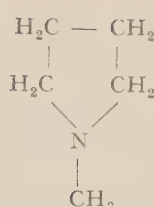
1) A. GORIS en A. LARSONNEAU, Bull. Sc. Pharmacol. **28**, 499 (1921).



pyriding
kpt. 116°



N-methylpyrroline
kpt. 86°



N-methylpyrrolidine
kpt. 79°

Beide laatste verbindingen gingen, bij destilleeren onder gewonen druk, over in de fractie 90—100° en daar ook het kookpunt van pyridine veel hoger is dan dat van aether, behoefde het geen verwondering te wekken, dat bij het spontaan verdampen van de aetherische oplossing een deel van deze stoffen in de alkaloidenrest achterbleef. Overigens was de hoeveelheid vluchtige basen in de rest bij het onderzoek van GORIS en LARSONNEAU kleiner dan 2 procent.

Op verschillende manieren werd nu gepoogd, het totaal van de kristallijne alkaloiden vast te stellen.

1 — *Spectrografisch* was dit, zooals vroeger al werd opgemerkt (pag. 32), wel mogelijk, maar de nauwkeurigheid liet zeer te wenschen over.

2 — *Methode Beausite*. Het meest voor de hand lag het, om de aetherische alkaloidenoplossing tot droog af te destilleeren, te probeeren de vluchtige alkalische verbindingen bij verhoogde temperatuur kwijt te raken en daarbij dan ontleding der alkaloiden te riskeeren. Op deze wijze corrigeerde ook BEAUSITE¹⁾ de fout, die deze stoffen bij de bepaling van het alkaloidengehalte in Extractum Belladonnae veroorzaakten. Werd de oplossing, die de alkaloiden uit het extract bevatte, uitgeschud met aether en alkali, dan maakte het een belangrijk verschil of het resterende alkaloid direct, of na drogen bij 100° werd getitreerd, terwijl ook de keuze van alkali van invloed bleek te zijn:

alkali:	direct getitreerd:	getitreerd na drogen ged. 45 min. bij 100°:
Na ₂ CO ₃	3,23 pCt.	2,95 pCt.
NH ₃	3,06 „	2,29 „

1) FR. BEAUSITE, Thèse Doct. Ph. Un. Paris (1919).

Het lagere moleculairgewicht van de aminen zou de oorzaak geweest zijn van de te hooge uitkomsten, wanneer direct werd getitreerd.

Langer drogen bij dezelfde temperatuur had geen ontleding ten gevolge:

Na drogen ged.	45 min.	bij 100°:	2,28 pCt.
„ „ „	90 „ „ „	:	2,28 „
„ „ „	120 „ „ „	:	2,29 „

Werd echter bij een hoogere temperatuur dan 100° gedroogd, dan liep het gehalte terug. Zoo werd b.v. na drogen bij 115° (sm.p. van atropine) gevonden:

1,68 pCt.	(Na ₂ CO ₃)
1,57 „	(NH ₃)

De nieuwere Pharmacopeeën en aanvullingen daarop bepalen, in navolging van BEAUSITE, het totaal-alkaloidengehalte van de verschillende Solanaceeëngrondstoffen eveneens, door te titreeren, nadat de vluchtige basen bij verhoogde temperatuur verwijderd zijn. Ph. belg. IV en Br. Ph. 1932 laten de aetherische oplossing der alkaloiden tot droog afdestilleeren; I. Suppl. Ph. belg. IV houdt de destillatierest gedurende een half uur op het kokend waterbad, 5. Add. 1942 Br. Ph. 1932 zelfs gedurende twee uur. Svenska F. 1925, F. Port. 1935 en F. Espan. VIII geven denzelfden tijd aan als het Belgisch Supplement, terwijl U.S.P. XI de bewerking, waarbij de alkaloidenrest, nadat de chloroform van de oplossing door destillatie is verwijderd, een kwartier lang op het kokend waterbad wordt verwarmd, tot driemaal toe laat herhalen.

Volgens KÜSSNER¹⁾ zijn deze methoden echter ongeschikt om te worden toegepast, wanneer ook hyoscyamine moet worden bepaald, omdat bij het drogen op 100° tot constant gewicht de specifieke rotatie van het alkaloidenmengsel sterk achteruit loopt.

Deze waarnemingen, zoowel als de gegevens van BEAUSITE, konden worden bevestigd. Een enkel voorbeeld, waarbij het uitgeschudde alkaloide gedurende 45 min. op 100° werd verwarmd, waardoor de kleuromslag bij het titreeren inderdaad scherp was en de rest vrijwel kleurloos was geworden en nog slechts een licht-bruine tint had behouden, demonstreert een en ander voldoende:

I) W. KÜSSNER, Merck's Jahresbericht **52**, 39 (1938).

	1)	2)
Gewogen alkaloïde . .	0,509 pCt.	0,480 pCt.
Hyoscyamine. . . .	0,353 „	0,340 „
Getitreerd alkaloïde. .	0,466 „	0,477 „

Het percentage hyoscyamine in het totaal (getitreerd) bedroeg 76, resp. 71 pCt. en was dus te laag.

PROČKE en SEIDL¹⁾ werkten een methode uit, waarbij de alkaloiden uit een oplossing van benzeen met natronloog worden uitgeschud. De vluchtige alkaloiden blijven dan in de benzeen achter, maar ook deze methode is ongeschikt om te worden toegepast door het gebruik van natronloog, dat hyoscyamine omzet in atropine.

Er kon nog worden opgemerkt, dat voor het gehalte aan apoatropine, wanneer dit uit de getitreerde oplossing van de alkaloiden, die eenigen tijd op 100° waren verwarmd, met chloroform werd uitgeschud, een iets hogere waarde (0,012, resp. 0,013 pCt.) werd gevonden, dan wanneer dit op de gebruikelijke wijze, vóóraf was bepaald (0,009 pCt.), terwijl als regel (zie pag. 80) het omgekeerde het geval was. Ook dit zou op ontleding tijdens het verwarmen kunnen wijzen.

3 - Volgens Kolthoff²⁾ is het mogelijk, om een middelmatig sterke base, naast een zeer zwakke, acidimetrisch quantitatief te bepalen, onder voorwaarde, dat de dissociatieconstanten van beide basen ver genoeg uit elkaar liggen. Met name kan een nauwkeurigheid van 1 pCt. worden bereikt, ingeval $K_1 : K_2 \geq 10^4$. Als praktisch voorbeeld gaf KOLTHOFF de bepaling van de hoeveelheid pyridine in handelsammonia, die uitgevoerd werd in twee titraties, één op neutraalrood (p_H 6,8—8,0), waarmee het NH_3 en één op dimethylgeel (p_H 2,8—4,0), waarbij NH_3 en pyridine beide werden getitreerd.

Daar de dissociatieconstante van atropine ($K = 4,5 \cdot 10^{-5}$) zelfs groter is dan die van ammoniak ($K = 1,75 \cdot 10^{-5}$), moest ook atropine op analoge wijze naast pyridine ($K = 1,25 \cdot 10^{-9}$) kunnen worden bepaald. Inderdaad wezen proefjes met zuiver atropine, gemengd met verschillende hoeveelheden pyridineoplossing van bekende sterkte, uit, dat atropine op deze wijze quan-

1) O. PROČKE en R. SEIDL, Oesterr. Chem. Ztg. **44**, 265 (1941).

2) I. M. KOLTHOFF, „Der Gebrauch von Farbindikatoren”, 126.

I. M. KOLTHOFF, Pharm. Weekbl. **59**, 129 (1922).

titatief werd teruggevonden. Als omslagkleur bij de titratie werd het best een mengsel genomen van atropinesulfaat met een hoeveelheid pyridine, gelijk aan de te verwachten hoeveelheid en evenveel indicator als bij de titratie werd toegevoegd.

Bij toepassing van deze titratie op het uit plantenmateriaal afgescheiden alkaloidenmengsel, sloeg de indicator echter weer niet scherp om; waarschijnlijk hadden niet alle vluchtige basen een zóó kleine dissociatieconstante als pyridine. Tevens werd, zooals trouwens te verwachten was, een nog lagere uitkomst verkregen dan met de titratie op methylood (p_H 4,2—6,4) en ook deze methode leidde dus niet tot het gewenschte resultaat.

4 – Een andere weg, langs welken getracht werd betere resultaten te verkrijgen, was die der *destructie*, waarbij de alkaloiden volgens KJELDAHL in den vorm van ammoniak werden bepaald. De alkaloiden uit de oplossing in chloroform, waarmee de rotatie was bepaald, werd eerst, om de vluchtige basen te verwijderen, gekookt met natronloog, daarna gedestruëerd met een mengsel van 20 cm.³ zwavelzuur, 2,5 g. kaliumsulfaat en 6 druppels koper-sulfaatoplossing 2 N., tot lichtgroene kleur. Na toevoeging van een overmaat natronloog, werd de in vrijheid gestelde ammoniak overgedestilleerd en op de gebruikelijke wijze opgevangen in een overmaat gesteld zuur, welke overmaat werd teruggetitreerd.

Verrassend was, dat deze methode, behalve onregelmatige, ook veel te lage uitkomsten gaf. Met een ander destructiemiddel, bestaande uit 50 mg. selenium, 100 mg. ferrosulfaat, 5 g. kaliumsulfaat en 20 cm.³ zwavelzuur, waarmee veel sneller, als regel na een paar uur, een heldere vloeistof werd verkregen, werden geen betere resultaten geboekt. Verscheidene malen werd de bepaling herhaald, de temperatuur bij het destrueeren verhoogd door minder zwavelzuur toe te voegen, blanco-bepalingen met de reagentia verricht, nagegaan of het destillatietoestel mogelijk lekte, steeds echter werden veel te lage waarden gevonden.

De eenvoudige verklaring voor deze afwijkingen werd tenslotte ontdekt, toen eenige destructies uitgevoerd werden met zuiver atropinesulfaat. Gebruik makend van bovengenoemd seleniummengsel (na een uur was de oplossing al helder geel) werd een hoeveelheid ammoniak getitreerd, die overeenkwam met 30,0 en 33,7 pCt. van het afgewogen atropinesulfaat; na destructie met het

mengsel met kopersulfaat, waarbij na zes uur destrueeren de oplossing pas helder was, werden 18,2 en 36,2 pCt. teruggevonden. Waaruit genoegzaam bleek, dat atropine zich op de aarg geven wijze langs destructieven weg niet quantitatief laat bepalen.

5. Door het alkaloïde op te lossen in een *geringere hoeveelheid sterker zuur*, werd tenslotte voor de quantitative bepaling van het totaal-alkaloïde een bevredigende oplossing, die voor de meeste analyses voldoende zou blijken te zijn, gevonden. Genomen werd 5 cm.³ 0,4 N. zoutzuur, de oplossing van de alkaloiden hierin gepolariseerd en de overmaat zuur teruggetitreerd met 0,1 N. alkali, waarbij inderdaad de indicator scherper omsloeg dan wanneer met een meer verdunde oplossing werd gewerkt. Deze methode had ook verder nog een dubbel voordeel. In de eerste plaats kon tijd worden bespaard, doordat de chloroform van de oplossing der alkaloiden niet behoefde te worden afgedestilleerd: de overmaat zuur kon direct worden teruggetitreerd.

In de tweede plaats, wat veel belangrijker was, kon het optisch actieve alkaloïde in de zure oplossing met grootere nauwkeurigheid worden bepaald dan in de oplossing in chloroform. Immers, zooals op pag. 63 werd opgemerkt, toonde, wanneer de oplossing tot een totaal gewicht van 25 g. werd aangevuld, elke honderdste graad, met de nauwkeurigheid waarvan ten hoogste werd gewerkt, ± 4 mg. hyoscyamine aan. Deze correspondeerden dan, daar van de 75 g. grondstof, die met aether en ammonia werden geschud, ruim 60 g. ter analyse kwamen, met $\pm 0,006$ pCt. hyoscyamine in de grondstof. Deze zelfde absolute fout kwam ook weer in het atropinegehalte tot uitdrukking en was te groot.

In waterige oplossing is de linksdraaiing van hyoscyamine grooter dan in chloroform; $[\alpha]_D$ wordt in de literatuur opgegeven als $-32,5$ (CARR en REYNOLDS, vgl. pag. 16), welke opgave kon worden bevestigd. Werd zóóveel zuur voor het oplossen gebruikt, dat de polarimeterbuis van 2 dm. weer juist gevuld was, dan werd slechts een $1\frac{1}{2}$ maal zoo groote nauwkeurigheid bereikt. Wanneer echter gebruik werd gemaakt van een buis met een zóódanig vernauwd lumen ¹⁾, dat de inhoud ongeveer 5 cm.³ bedroeg,

1) Daartoe werd een buis, met een inwendigen diameter van ± 5 mm., in een polarimeterbuis van 2,2 dm. met canadabalsem vastgekit. De zijvlakken werden vervolgens glad geslepen.

een hoeveelheid, die gemakkelijk hanteerbaar was en waarbij van verdampen van het oplosmiddel geen hinder werd ondervonden, dan werd de bepaling vijfmaal zoo nauwkeurig en gaf elke honderdste graad fout in de aflezing der rotatie een verschil van ruim 0,001 pCt. in het hyoscyamine- en dus ook in het atropinegehalte van de grondstof, wat een toelaatbare marge mocht worden geacht.

Voor het bepalen van het soortelijk gewicht der te polariseeren oplossing was voor deze kleine hoeveelheid de pipet van EYKMAN het meest aangewezen instrument.

d - Slotopmerkingen

Rekening houdend met de aangegeven verbeteringen, werd nu met een Belladonnawortel, die eveneens geen scopolamine bevatte, op de volgende wijze een aantal bepalingen verricht:

„75 g. grondstof uitschudden met aether en ammonia, enz. als „voren (pag. 69).

„Waterige aangezuurde oplossing uitschudden met chloroform; „*apootropine* spectrografisch bepalen.

„Waterige oplossing uitschudden met aether en ammonia 28 „pCt. Aether tot bijna droog afdestilleeren; rest in een beker- „glaasje van 50 cm.³ drogen, eerst bij 50°, daarna in den exsiccator tot constant gewicht.

„Alkaloiden oplossen in 5 cm.³ 0,4 N. zoutzuur en oplossing polariseeren (*opt. act. alkal.*).

„Oplossing titreeren met 0,1 N. alkali (*totaal alkal. gehalte*)”.

Resultaten:

	1)	2)	3)	4)	5)	6)	gem.
Apoatropine. . . .	0,009	0,010	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009
Totaal getitreerd. .	0,443	0,445	0,464	0,466	0,447	0,459	0,451
Totaal optisch actief							
alkaloide	0,397	0,430	0,419	0,410	0,403	0,412	0,407
Totaal optisch inact.							
alkaloide	0,046	0,042	0,045	0,056	0,044	0,047	0,044

Een tweede serie bepalingen werd zóó uitgevoerd, dat de alkaloiden direct in 5 cm.³ 0,4 N. zuur werden opgelost, waarna het apoatropine uit de gepolariseerde en getitreerde oplossing werd uitgeschud en spectrografisch bepaald:

	1)	2)	3)	4)	5)	6)	gem.
Totaal getitreerd. .	0,491	0,475	0,478	0,489	0,482	0,488	0,484
Totaal optisch actief							
alkaloïde	0,430	0,445	0,428	0,433	0,427	0,434	0,433
Totaal optisch inact.							
alkaloïde	0,061	0,030	0,050	0,056	0,055	0,054	0,051
Apoatropine	0,006	0,006	0,006	0,006	0,005	0,005	0,006

Hierbij bleek:

a) Bij de eerste serie bepalingen werd een geringere hoeveelheid alkaloïde dan bij de tweede serie getitreerd en ook voor het gehalte aan hyoscyamine werd een naar rato lagere waarde gevonden. Dit verschil vond zijn verklaring hierin, dat bij de bepaling van apoatropine ook de zoutzure zouten van de andere alkaloiden met chloroform ten deele werden uitgeschud. Door de gespectrograferde oplossing met aether en ammonia uit te schudden, kon het verschil-alkaloïde dan ook, gravimetrisch en titrimetrisch, quantitatief worden teruggevonden. De hoeveelheid ervan bedroeg in verschillende gevallen ± 20 mg., overeenkomende met $\pm 0,030$ pCt. in de grondstof, wat aan de hand van eenige proefjes met mengsels van zuivere alkaloiden kon worden bevestigd. In dezelfde mengsels werd het apoatropine spectrografisch quantitatief teruggevonden; op het spectrogram had het mee-uitgeschudde alkaloïde dus geen invloed (vgl. ook pag. 48).

Het bepalen van apoatropine, door de zoutzure oplossing der alkaloiden direct met chloroform uit te schudden, bracht dus een tekort-fout in het totaal-alkaloidengehalte en in dat van het hyoscyamine met zich mee.

b) Werd, zooals in verband hiermee voor de hand lag om te probeeren, het apoatropine bepaald door de gepolariseerde en daarna getitreerde oplossing, na verwijdering van den indicator, met chloroform uit te schudden (tweede serie), dan werd voor het gehalte aan apoatropine een te laag percentage gevonden.

Daar deze fout bij herhaling optrad en het niet duidelijk was, hoe deze kon worden vermeden, werden bij het onderzoek van de diverse wortel- en bladmonsters eenvoudig twee bepalingen duplogewijs verricht: de eerste om het totaal en het totaal aan optisch actieve alkaloiden vast te stellen; de tweede om apoatropine, atropine en scopolamine te bepalen. Dat ook van de beide laatste

alkaloiden bij de bepaling van apoa tropine een deel met de chloroform werd uitgeschud, maakte voor atropine en scopolamine een te verwaarloozen fout, die echter voor hyoscyamine moest worden vermeden.

4 – CONCLUSIES

Resumeerende hetgeen in dit hoofdstuk besproken is, kon, voor het opstellen van een voorschrift voor de quantitative bepaling van de verschillende alkaloiden in *Atropa Belladonna*, de methode van KÜSSNER in groote trekken worden aanvaard, n.l. voor zoover het het isoleren van apoa tropine door uitschudden met chloroform in zoutzuur milieu, de extractie van de overblijvende alkaloiden door uitschudden met aether in alkalisch milieu, de polarimetrische bepaling van hyoscyamine, de scheiding tusschen hyoscyamine-atropine en scopolamine door middel van tetrachloorkoolstof en de bepaling van scopolamine als goudzout betrof.

In detail bleek deze methode echter op de volgende punten niet te kunnen worden gevolgd:

a) De extractie van de alkaloiden met methyleenchloride en natriumcarbonaat was langdurig en gaf aanleiding tot racemisatie van de optisch actieve alkaloiden. Deze methode kon met voordeel worden vervangen door de bij vele quantitative alkaloidenbepalingen toegepaste uitschudwijze met aether en ammonia.

b) Bromometrisch werden voor apoa tropine steeds te hooge en onregelmatige uitkomsten verkregen. Hoewel tijdroovend en gebonden aan een bepaalde apparatuur, was de spectrografische bepalingwijze verre boven de titrimetrische te verkiezen.

c) Het „restalkaloide” van KÜSSNER, dat zich bij de scheiding met tetrachloorkoolstof als bruine druppeltjes afscheidde en bij nader onderzoek grootendeels uit hyoscyamine bleek te bestaan, had geen beteekenis en werd bij de „eigen methode” als optisch actief en eventueel als optisch inactief alkaloide bepaald.

d) De scheiding van atropine en scopolamine in het tetrachloorkoolstoffiltraat, door het „ruw scopolamine” te zuiveren, waarbij een deel van het alkaloide verloren ging, werd veranderd in een quantitative bepaling van beide alkaloiden door middel van het smeltpunt van het gezamenlijke, volledig gepraeipiteerde chloroauraat.

e) De moeilijkheden, ontstaan doordat een deel van het hyoscyamine — en dit gold ook voor de overige alkaloiden — tegelijk met apoatropine werd uitgeschud en voor de verdere bepaling verloren ging en een ander deel tijdens het drogen van het kristallisaat uit tetrachloorkoolstof geneigd was te ontleden, werden overbrugd door het optisch actieve alkaloïde direct te bepalen en in een tweede analyse de percentages apoatropine, atropine en scopolamine vast te stellen.

f) Uit een waterige oplossing laat hyoscyamine zich met aether en natriumcarbonaat niet uitschudden, zonder gedeeltelijk te racemiseeren. Ammonia is hiervoor het aangewezen alkali.

g) Liever dan dit langs gravimetrischen weg te doen, werd het totaal-alkaloidengehalte door titratie bepaald. Bij deze titratie werkten de vluchtige alkaloiden storend en van de verschillende manieren, waarop getracht werd, de kristallijne alkaloiden naast deze basen te bepalen, voldeed de methode, waarbij het alkaloïde getitreerd werd, nadat het in een zoo gering mogelijke hoeveelheid zuur was opgelost, het beste.

h) Deze laatste werkwijze had nog een verder voordeel, nl. dat in de waterige, meer geconcentreerde alkaloidenoplossing, vooral ook door het gebruik van een polarimeterbuis met vernauwd lumen, het optisch actieve alkaloïde veel nauwkeuriger kon worden bepaald dan in de door KÜSSNER gebezigde oplossing in chloroform.

Het volledige voorschrift, zooals het naar aanleiding van deze punten als „eigen methode” werd opgesteld, wordt, met een voorbeeld van een analyse van *Radix Belladonnae*, in het volgende hoofdstuk gegeven.

HOOFDSTUK VIII

EIGEN ANALYSEMETHODE

1 - VOORSCHRIFT VAN DE BEPALING

A - *Bepaling van het totaal-alkaloidengehalte en het gehalte aan optisch actieve alkaloiden*

„Overgiet in een flesch van $1\frac{1}{2}$ liter inhoud 75 g. Radix „Belladonnae, met een bekend vochtgehalte en tot poeder „(B₄₀) gebracht, met 750 g. aether, meng aether en grondstof „door schudden en voeg 25 cm.³ ammonia (5 pCt.) toe. Laat, „na $\frac{1}{2}$ uur schudden, korten tijd bezinken, giet daarna de „bovenstaande vloeistof, zorgdragende dat zoo weinig mo- „gelijk aether verdampt, door een filter in een van te voren „met uitgedroogd magnesiumsulfaat ¹⁾ getarreerde flesch (a). „Weeg de flesch met het filtraat (b), filtreer, na $\frac{1}{2}$ uur staan, „door een droog filter in een destilleerkolf van 1 liter en spoel „filter en flesch met aether na. Destilleer den aether af, tot „nog eenige cm.³ vloeistof over zijn. Meng deze rest met „20 cm.³ 0,1 N. zoutzuur, breng alles met behulp van 60 cm.³ „water en 100 cm.³ aether quantitatief in een scheitrechter „over en schud vijfmaal uit met telkens 100 cm.³ aether. „Deze aetherische uitschuddingen worden verder niet ge- „bruikt.

Totaal-alkaloïde (gewogen). Voeg aan de waterige oplossing weer „100 cm.³ aether en vervolgens 25 cm.³ ammonia (28 pCt.) „toe en schud uit. Herhaal deze bewerking viermaal, droog „de verzamelde aetherische oplossingen in een kolf boven „uitgedroogd magnesiumsulfaat, filtreer de bovenstaande „vloeistof door een droog filter in een destilleerkolf van 750 „cm.³ en spoel kolf en filter met aether na. Destilleer het „grootste deel van den aether af en breng de rest met zoo „weinig mogelijk aether over in een beerglasje van 50 cm.³. „Laat de rest van den aether bij $\pm 50^\circ$ spontaan verdampen

1) Uitgedroogd magnesiumsulfaat „droogt“ den aether beter dan Sulfas natrius exsiccatus - N. SCHOORL, Pharm. Weekbl. 74, 1108 (1937).

„en droog het alkaloïde in den exsiccator tot constant gewicht.
 „Het gevonden getal (*c*) vormt een contrôle op het door
 „titratie te bepalen totaal-alkaloïde.

Totaal optisch actief alkaloïde. Pipeteer in het bekersglasje 5 cm³.
 „0,4 N. zoutzuur en filtreer de oplossing over een van te voren,
 „met trechttertje, gewogen, droog filtertje in een, eveneens
 „vooraf gewogen, Erlenmeyer kolfje. Filtreer de oplossing
 „terug in het bekersglasje, daarna weer in het kolfje enz.,
 „totdat de vloeistof volkomen helder is. Door het totaal aan
 „glaswerk met de oplossing opnieuw te wegen, wordt het
 „gewicht van de oplossing (*G*) gevonden. Van de heldere
 „vloeistof wordt met behulp van een pipet van Eykman
 „het soortelijk gewicht (*d*) vastgesteld.

„Vervolgens wordt, het beste door middel van een glazen
 „buis met uitgetrokken punt, de polarimeterbuis (lengte
 „1 dm.) gevuld en de optische draaiing (*α*) bepaald.

„De hoeveelheid optisch actief alkaloïde, berekend als
 „hyoscyamine (*H*), wordt nu gevonden uit:

$$H = \frac{\alpha \cdot G}{l \cdot [\alpha]_D \cdot d},$$

„waarin $[\alpha]_D$ de specifieke draaiing van hyoscyamine in
 „0,4 N. zoutzuur voorstelt *).

Totaal-alkaloïde (getitreerd) (e). Breng de oplossing uit de polari-
 „meterbuis terug in het gewogen kolfje en titreer met 0,1 N.
 „loog en methylrood als indicator tot kleuromslag. Spoel
 „met de getitreerde oplossing bekersglasje, filter, buis met
 „uitgetrokken punt, pipet van Eykman en polarimeterbuis
 „na. Druppel daarna weer loog toe en spoel alle glaswerk
 „weer na, zóólang, tot geen kleuromslag meer intreedt (*f*).
 „Elke cm.³ gebonden 0,1 N. zuur $\equiv$ 0,0289 g. alkaloïde.

Totaal optisch inactief alkaloïde (g). Dit wordt gevonden, door het
 „gehalte aan optisch actieve alkaloiden (*H*) af te trekken
 „van het door titratie gevonden totaal-alkaloïde (*e*).

*) De spec. draaiing van scopolamine in waterige oplossing bedraagt
 $\pm -30^\circ$ (zie pag. 16), wat bij de berekening een te verwaarloozen fout
 maakt (zie pag. 70).

B – *Bepaling van apoatropine, atropine en scopolamine*

„Schud, als onder A, 75 g. grondstof met aether en ammonia
„uit, breng de destillatierest van het filtraat (*h*) met zuur
„en aether over in een scheitrechter en schud uit. Behandel
„de waterige oplossing, eveneens als onder A, vijfmaal met
„100 cm.³ aether.

Apoatropine. Schud de waterige oplossing tienmaal uit met telkens
„100 cm.³ chloroform, laat de chloroform door een droog
„filter in een kolf van een liter aflopen en droog de ver-
„zamelde chloroform-uitschuddingen boven uitgedroogd mag-
„nesiumsulfaat. Breng de vloeistof vervolgens over in een
„destilleerkolf van een liter, destilleer het grootste deel van het
„oplosmiddel af, breng de rest van de oplossing met behulp
„van weinig chloroform over in een uitdampschaaltje en
„voeg 10 cm.³ 0,1 N. zoutzuur toe. Verdamp ook de rest van
„de chloroform, filtreer de resterende waterige oplossing
„in een maatkolf van 100 cm.³, wasch uitdampschaaltje en
„filter na en vul het filtraat met water tot de deelstreep aan.
„Maak van de aldus verkregen oplossing een spectrogram
„(*k*) en lees de hoeveelheid apoatropine uit grafiek V op
„pag. 90 af.

Atropine en scopolamine. Voeg aan de waterige oplossing, die met
„chloroform werd uitgeschud, 100 cm.³ aether en vervolgens
„25 cm.³ ammonia toe en schud uit. Herhaal deze bewerking
„viermaal en volg ook verder het voorschrift als onder A,
„bij de bepaling van het totaal-alkaloïde (gewogen). Los,
„door zacht op een waterbad te verwarmen, de gedroogde
„alkaloïdenrest in het bekersglasje van 50 cm.³ op in 3 g.
„tetrachloorkoolstof, sluit het bekersglasje met een kurk
„af en laat 24 uur staan. Vul daarna de verdampte tetrachloor-
„koolstof aan, breng het kristallisaat op een 1 G3-filter, zuig
„scherp af, wasch kolfje en filter tweemaal met 2 cm.³ tetra-
„chloorkoolstof na en zuig weer scherp af.

„Verdamp van het filtraat de tetrachloorkoolstof, los de
„rest op in 10 cm.³ 1/2 pCt. zoutzuur en schud, onder toevoeging
„van 2 cm.³ van een verzadigde oplossing van natrium-
„bicarbonaat, driemaal met telkens 20 cm.³ aether (*m*), door
„voorzichtig om te zwenken, uit. Voeg daarna 5 cm.³ ammonia

„(28 pCt.) toe en schud uit met 15, 10 en 10 cm.³ chloroform (*n*).

„Destilleer, na drogen boven uitgedroogd magnesiumsulfaat van beide uitschuddingen het oplosmiddel gedeeltelijk af, breng het resterende over in een bekersglasje van 50 cm.³ en verdamp de rest van het oplosmiddel. Los het achterblijvende alkaloïde op in 3 cm.³ 0,1 N. zoutzuur, voeg 30 druppels goudchlorideoplossing (1 = 20) toe en laat tenminste 48 uur ter kristallisatie staan.

„Filtreer de gevormde kristallen af over een van te voren gewogen, klein, gehard filtertje, zuig scherp af, wasch het filter met eenige druppels zoutzuurhoudend water na, droog tot constant gewicht bij een aanvankelijk niet te hoge temperatuur, weeg en bepaal het smeltpunt.

„De verhouding atropine-scopolamine wordt met behulp van de kromme op pag. 24 gevonden”.

Door de uitkomsten van A en B te combineeren, wordt de juiste samenstelling van het alkaloidenmengsel in het uitgangsmateriaal gevonden. Een en ander laat zich het beste aan de hand van een voorbeeld verduidelijken.

2 – VOORBEELD VAN EEN ANALYSE VAN RADIX BELLADONNAE

Monster no. 13. Land van herkomst: Joegoslavië.

Vochtgehalte. 2,20 g. grondstof werden in een weegglasje zóólang op 103—105° gehouden, tot het gewichtsverlies na een uur drogen nog slechts enkele milligrammen bedroeg.

Het gewichtsverlies na drie uur drogen was 0,185 g.; het vochtgehalte dus 8,4 pCt.

A – Gewicht van het filtraat (*b—a*), na uitschudden van de grondstof met aether en ammonia:

1) 651 g.

2) 640 g.,

welke hoeveelheden overeenkwamen met 65,1, resp. 64,0 g. grondstof, daar het extractgehalte van de aetherische oplossing bij *Radix Belladonnae* bleek te kunnen worden verwaarloosd *).

*) In werkelijkheid kwamen 640 g. aetherisch filtraat, doordat in den aether ook water oplost, overeen met iets minder dan 64,0 g. grondstof. Hiermee werd geen rekening gehouden, omdat de onderlinge verhouding der alkaloiden doel van het onderzoek vormde en de absolute alkaloidengehalten van secundair belang waren.

Totaal-alkaloïde (gewogen). Gevonden werd (c):

2) 0,3975 g.,

of wel

1) $\frac{100}{65,1} \cdot 0,4025 = 0,618 \text{ pCt.}$ 2) $\frac{100}{64,0} \cdot 0,3975 = 0,621 \text{ pCt.},$
 gemiddeld: **0,620 pCt.**

Totaal optisch actief alkaloïde. Het gewicht van de heldere, te polariseeren oplossing bedroeg (G):.

2) 5,22 g., *)

het soortelijk gewicht van deze oplossing (d):

2) 1,020

en de draaiing (α) in een polarimeterbuis van 2,164 dm. (l):

2) — $4^{\circ},81$.

Aangezien de specifieke draaiing van hyoscyamine in 0,4 N zoutzuur met zuiver alkaloïde op $-32^{\circ},5$ was bepaald, werd aan optisch actieve alkaloiden (H), berekend als hyoscyamine, gevonden:

1) $\frac{5,20 \cdot -4,97}{-32,5 \cdot 2,164 \cdot 1,020}$ g. = 0,360 g., d.i. 0,553 pCt.

2) $\frac{5,22 \cdot -4,81}{-32,5 \cdot 2,164 \cdot 1,020}$ g. = 0,350 g., d.i. 0,547 pCt., gemiddeld **0,550** pCt.

Totaal-alkaloïde (getitreerd). Het aantal cm.³ 0,1004 N. alkali, noodig voor de neutralisatie, bedroeg:

Voor de blanco be- 1)

2) 20,20 cm.³

Voor het terug-

6.95 cm.³

Hoeveelheid alka-

loide	(20,20 — 6,75) . 1,004 .	(20,20 — 6,95) . 1,004 .
	. 0,0289 g. = 0,390 g.	. 0,0289 g. = 0,384 g.

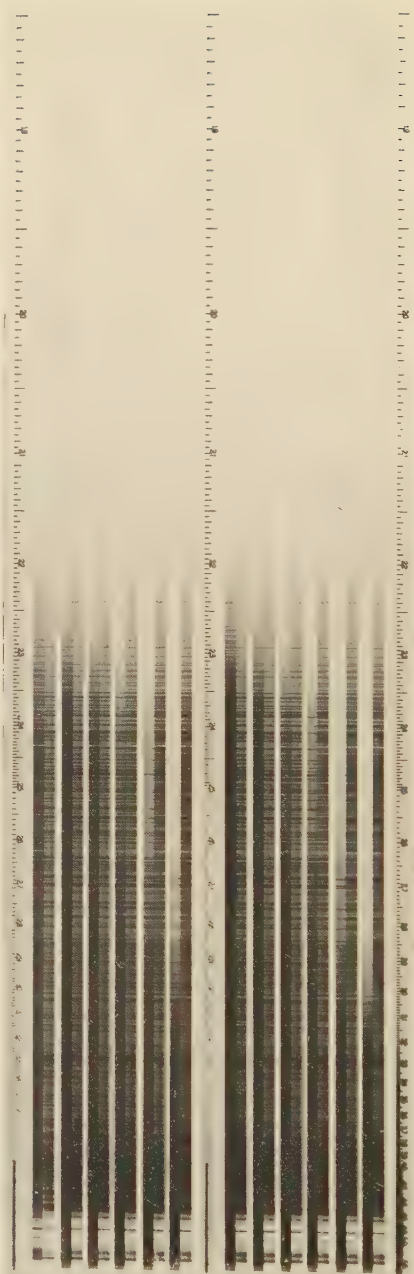
$$\text{Percentage alkaloid (e) } \dots \dots \frac{100}{65,1} \cdot 0,390 = 0,599 \text{ pCt.}$$
$$\frac{100}{64,0} \cdot 0,384 = 0,601 \text{ pCt.,}$$

gemiddeld: **0,600 pCt.** **)

gemiddeld: 0,600 pCt. **)

*) Het gewichtsverlies tijdens het filtreren bedroeg in dit en andere gevallen steeds 20—30 mg., te veel dus, om voor het gewicht van de oplossing eenvoudig de som van de alkaloidenrest in het bekersglasje en het gewicht van de gepipeteerde 5 cm.³ 0,4 N. zoutzuur te nemen.

**) Er kon nog worden opgemerkt, dat, wanneer de getitreeerde oplossing met chloroform werd uitgeschud, 0,005 pCt. apoatropine werd gevonden, terwijl de juiste waarde (zie onder B) 0,011 pCt. bedroeg.



Gedechte van het absorptiespectrum van apatropine, geïsoleerd uit *Radix Belladonnae*.

Totaal optisch inactief alkaloïde (g). Gevonden: 0,600 — 0,550 — 0,050 pCt. ($e-H$).

B — Gewicht van het filtraat (h), na uitschudden van de grondstof met aether en ammonia:

1) 630 g.

2) 634 g.

Apoatropine. Voor het spectrogram (k) werden niet alle 21 cuvetten met de te onderzoeken vloeistof gevuld: slechts met die, waarvan vermoed werd, dat ze correspondeerden met punten in de nabijheid van het vlak verloopende deel van de curve, werden opnamen gemaakt. Om tijd te besparen werden bovendien de te gebruiken buizen om en om genomen en voor de duplobepaling, die als regel dezelfde punten opleverde, de tusschenliggende cuvetten gebruikt. Van de hiernaast afgebeelde spectrografische opname correspondeert het bovenste deel met de buizen 6 — + 16; het onderste deel met de cuvetten 7 — + 17.

Gevonden werden de volgende punten:

1)	2)
cuvet no. 6 (log . E = —0,5) 3090 Å	cuvet no. 7 (log . E = —0,4) 3020 Å
„ „ 8 („ = —0,3) 2900 „ „ „ 9 („ = —0,2) 2710 „	
„ „ 10 („ = —0,1) 2590 „ „ „ 11 („ = 0,0) 2410 „	
„ „ 12 („ = +0,1) 2340 „ „ „ 13 („ = +0,2) 2300 „	
„ „ 14 („ = +0,3) 2270 „ „ „ 15 („ = +0,4) 2240 „	
„ „ 16 („ = +0,5) 2200 „ „ „ 17 („ = +0,6) — „	

Uitgezet in een grafiek (V, pag. 90), vormen deze punten een kromme, die overeenkomt met 6,6 mg. apoa tropine, d.i. $\frac{100}{63,2} \cdot 0,0066 = 0,011$ pCt. in de grondstof.

Atropine en scopolamine. In de beide bekerglaasjes van de bicarbonaat-aether-uitschuddingen (m) ontstonden geen kristallen, zoodat de wortel geen *scopolamine* bevatte.

In de twee andere glaasjes (n) hadden zich lange veeren en naalden van atropinegoudchloride gevormd:

1) 22,5 mg.

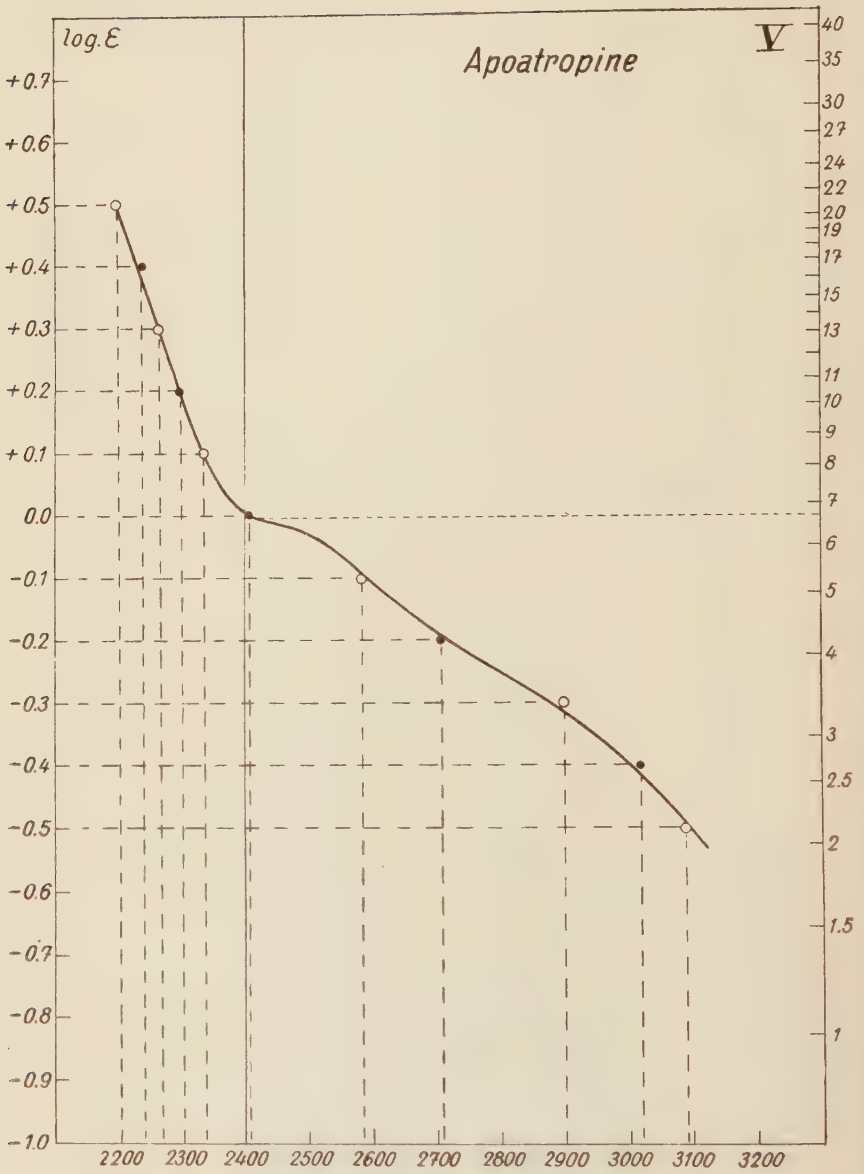
2) 24,6 mg.,

overeenkomend met

1) 10,5 mg.

2) 11,5 mg. alkaloïde.

Het smeltpunt was dat van zuiver atropinechloroauraat: 138°.



„met een bekend vochtgehalte en tot poeder (B_{40}) gebracht,
 „met 750 g. aether, meng aether en grondstof door schudden
 „en voeg 25 cm.³ ammonia (5 pCt.) toe. Voeg, na $\frac{1}{2}$ uur schud-
 „den, $7\frac{1}{2}$ g. talk en, na weer 3 minuten schudden, 35 g. water
 „toe, schud nogmaals 3 minuten door en laat dan bezinken.
 „Filtreer in een getarreerde kolf, weeg het filtraat, enz. als
 „verder bij het voorschrift voor *Radix Belladonnae*”.

Het extractgehalte van de bij de bladen uitgeschudde aetherische oplossing was, in tegenstelling tot het extractgehalte van de overeenkomstige oplossing bij de wortels, niet geheel te verwaarlozen. Bij de berekeningen werd echter ook hier met dit extractgehalte geen rekening gehouden (vgl. pag. 87), daar de fout in het te vinden totaal-alkaloidengehalte gering was, omdat het geheele filtraat gemiddeld slechts ongeveer één gram opgeloste stof bevatte.

HOOFDSTUK IX

DE RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

De tabellen, die de analyseresultaten weergeven (pag. 104 en 105), mogen als volgt worden toegelicht.

Zoowel bij wortels als bladen werd het totaal-alkaloïde gravimetrisch bepaald als contrôle op het daarna titrimetrisch vast te stellen totaal. Bij de wortelmonsters stond, de niet te verwijderen verontreinigingen in aanmerking genomen, het totaal gewogen alkaloïde in een normale verhouding tot het totaal getitreerde alkaloïde, welk laatste getal bij de radices dan ook indientiek gesteld werd met het totaal aan kristallijne alkaloiden. Het verschil tusschen dit „totaal-kristallijn” en de som van het afzonderlijk bepaalde hyoscyamine, scopolamine, apoatropine en atropine werd in rekening gebracht als „resteerend alkaloïde”, welk „resteerend alkaloïde” voor een gedeelte bestond uit atropine of scopolamine (of eenig ander alkaloïde), dat bij de analyse verloren was gegaan, mogelijk ook eenvoudig het resultaat van analysefouten was.

Bij Radix no. 4 werden abnormale uitkomsten verkregen (zie ook pag. 95) terwijl bij enkele andere monsters (nos. 7, 8, 10, 25, 30 en 31 het totaal gewogen alkaloïde niet werd bepaald, omdat het drogen in den exsiccator te lang duurde.

Bij de bladen vertoonde het totaal aan kristallijne alkaloiden, behoudens enkele uitzonderingen (nos. 22, 23 en 32) goede overeenkomst met het gewogen totaal, maar gaf de titratie van de alkaloiden duidelijk te lage uitkomsten. Wetende, dat de bladen relatief meer vluchtige basen bevatten dan de wortels, mocht, in verband met de bij de analyses opgedane ervaringen (pag. 74 e.v.), worden aangenomen, dat deze te lage titratiewaarden weer aan deze vluchtige verbindingen te wijten waren. De onderlinge verhouding van de alkaloiden werd bij de Folia dan ook niet, zooals bij de wortels, uit het titrimetrisch gevonden totaal-alkaloïde, maar uit het „totaal-kristallijn” berekend.

In tegenstelling tot de bladen, waarbij gemiddeld ruim 4 pCt.

der alkaloiden uit *scopolamine* bestond, ging het bij de wortels in de meeste gevallen om het aantoonen van sporen van dit alkaloid, waarbij kon worden opgemerkt, dat op dezen regel van de vier onderzochte Bulgaarsche wortels (nos. 15, 16, 17 en 18) twee een uitzondering vormden (nos. 17 en 18). Het Amerikaansche monster (no. 19) sloot zich bij deze uitzonderingen aan.

Verder zien we, dat de verhouding tusschen het, polarimetrisch bepaalde, *optisch actieve alkaloid* (hyoscyamine en scopolamine) en het totaal-alkaloid, zoowel voor *Folia* als voor *Radix Belladonnae*, aan slechts weinig variatie onderhevig was en gemiddeld voor beide ruim 90 procent bedroeg. Dit, terwijl er, naast verschillende zeer fraai uitzierende monsters, ook eenige soorten werden onderzocht, die op het uiterlijk zonder meer zouden zijn afgekeurd.

Dat was b.v. het geval met de radices nos. 5 t m 8, oude, donker gekleurde, half vermolmde wortels met een slecht aroma. Ook no. 4 kon op het oog uitsluitend als „slecht” worden gekwalificeerd, terwijl no. 18 vol met kevertjes zat en door deze sterk was aangevreten. Uit Amerika werden een monster *Radix* en een monster *Folia Belladonnae* gezonden, die blijkbaar ter plaatse ongedroogd in een stuk papier waren gepakt en zoo naar Holland kwamen. De bladen arriveerden tenminste in halfvergane toestand, terwijl ook van de wortels mocht worden verondersteld, dat de kwaliteit door de onoordeelkundige wijze van verzenden had geleden.

Bij al deze wortels was verwacht, dat er, hetzij door te hooge temperatuur bij het drogen, hetzij door eenige andere oorzaak, behalve veranderingen in het uiterlijk, ook wijzigingen zouden zijn opgetreden in de onderlinge verhouding der zoo gevoelige alkaloiden, b.v. door hydrolyse, racemisatie en vorming van apoa tropine.

Racemisatie nu bleek slechts in geringe mate te zijn opgetreden; het gehalte aan optisch actieve alkaloiden was maar weinig lager dan bij de „betere” soorten.

Hetzelfde kon geconstateerd worden bij de bladen, van welke de nos. 27 en 30, in vergelijking tot de overige monsters, qua uiterlijk uit den toon vielen, no. 27 het meest. Ook deze vertoonden een iets lager gehalte aan optisch actieve alkaloiden. Vergelijken we hiermee echter de beste van de onderzochte bladmonsters, de nos. 24 en 25, die kennelijk zeer zorgvuldig werden geselecteerd

en gedroogd (en ook verreweg het hoogst in prijs waren ¹⁾), dan viel het op, dat deze, wat betreft het gehalte aan optisch actieve alkaloiden, niet boven het gemiddelde uitstaken en dat dit gehalte, bij no. 2 zelfs hooger was dan bij no. 1.

Het gehalte aan *apoa tropine* liep voor de diverse monsters eveneens betrekkelijk weinig uiteen, maar ook hier was verschil te constateeren tusschen, wat het uiterlijk betreft, betere en minder goede soorten. Van de eerste was dit gehalte iets lager dan van de laatste; gemiddeld bestond het totaal-alkaloïde, zoowel bij de bladen als bij de wortels, voor ongeveer 2 procent uit *apoa tropine*.

Bij radix no. 4, een donkere, leelijk uitziende wortel, was dit percentage relatief zeer hoog, terwijl het gehalte aan optisch actieve alkaloiden, 90 pCt. van het totaal-alkaloïde, toch „normaal” was te noemen. Vormde deze wortel in dit opzicht al een uitzondering, ook voor het „totaal-kristallijn” werd bij herhaling een abnormale uitkomst gevonden, n.l. hooger dan het gewogen en getitreerde totaal. De juiste verhouding tusschen de alkaloiden onderling kon voor dezen wortel dus niet worden opgegeven.

Er kon nog worden opgemerkt, dat bij de bladen no. 24 een hooger gehalte aan *apoa tropine* werd gevonden dan bij no. 25 en dat, ook wat het totaal-alkaloïdegehalte aangaat, no. 2 de voorkeur verdiende boven no. 1!

Het *totaal-alkaloïdegehalte* bleek op geenerlei wijze met het uiterlijk samen te hangen. Immers, terwijl b.v. de wortels met het hoogste gehalte, de nos. 5 en 6, die overigens waarschijnlijk wel tot één partij behoorden, niet van de beste soort waren, was het omgekeerde het geval met de bladen nos. 24 en 25. Evenmin wijzigde zich de onderlinge verhouding der alkaloiden met dit totaal, noch was er sprake van eenige correlatie tusschen het al of niet gecultiveerd zijn eenerzijds en het alkaloidengehalte anderzijds ²⁾.

Met betrekking tot de groeiplaats kon tenslotte, om op het

1) De prijs per kg. bedroeg van de Fransche bladen f 0,70; van de Engelsche bladen no. 1 f 4,75 (no. 24) en van de bladen no. 2 f 3,60 (no. 25).

2) Gecultiveerd waren alle Nederlandsche en Engelsche producten, alsmede de uit Milly afkomstige bladen en wortels; van de overige monsters mocht worden aangenomen, dat ze in het wild werden ingezameld.

eigenlijke uitgangspunt van het onderzoek terug te komen, hetzelfde worden opgemerkt.

Resumeerend: alleen tusschen het uiterlijk van bladen en wortels, dat ten nauwste samenhangt met de wijze van behandelen na het oogsten, en het alkaloidengehalte bleek eenig verband te kunnen worden gelegd. Waaruit tegelijk volgt, dat de resultaten van de analyses, aan de gedroogde simplicia verricht, niet zonder meer mogen worden overgebracht op de alkaloiden van de levende plant.

Voor het welwillend beschikbaar stellen van verschillende van de onderzochte monsters, moge ik de beide groothandels Brocades-Stheeman en de Amsterdamsche Chininefabriek hierbij hartelijk dank zeggen.

SAMENVATTING

Na een inleiding, waarin de beweegredenen tot de bewerking van dit proefschrift: de toepassing in de geneeskunde van de Bulgaarsche Belladonnakuur, en de doelstelling: te trachten vast te stellen of de quantitative verhouding van de alkaloiden in wortels en bladen van *Atropa Belladonna* wisselt, naarmate de groeiplaats van de plant varieert, worden uiteengezet, volgen allereerst een beschrijving van het groeigebied van de *Belladonna* in verband met het onderzochte materiaal (hoofdstuk I) en een overzicht van de in de *Belladonna* voorkomende werkzame bestanddeelen (hoofdstuk II).

In de hoofdstukken III t/m VII wordt het onderzoek van *Radix* en *Folia Belladonnae* besproken, hoofdzakelijk aan de hand van analyses met zuivere alkaloiden, aangevuld met quantitative bepalingen, uitgevoerd aan plantenmateriaal. Hoofdstuk VIII geeft het voorschrift van de eigen analysemethode, met behulp waarvan uiteindelijk een aantal wortel- en bladmonsters van verschillende herkomst werd onderzocht. De resultaten van dit onderzoek worden in het laatste hoofdstuk (IX) vermeld.

Het analytisch gedeelte van het proefschrift begint met een opsomming van de te voren aan de Solanaceeën en meer speciaal aan *Atropa Belladonna* verrichte onderzoekingen, voor zoover die betrekking hebben op de verschillende in de plant voorkomende alkaloiden (hoofdstuk III). Van deze onderzoekingen werd die, waarmee, door middel van het chloroauraat, de aanwezigheid van hyoscyamine voor het eerst in *Belladonna* werd aangetoond, voor scopolamine uitgewerkt tot een methode, waarmee dit alkaloid in de loop van het verdere onderzoek quantitatief voldoende nauwkeurig en kwalitatief voldoende scherp kon worden bepaald (hoofdstuk IV).

Vervolgens werden de alkaloiden spectrografisch onderzocht (hoofdstuk V). Er werden spectrogrammen gemaakt van atropine, hyoscyamine, scopolamine, apoatropine en belladonnine, alle praeparaten van Merck, alsook van het totaal-alkaloïde uit *Radix*

en *Folia Belladonnae*. Geconstateerd werd, dat alleen apoatropine zich goed voor het quantitatief spectrografisch onderzoek leende.

In de hoofdstukken VI en VII worden de analysemethoden van KUHN en SCHÄFER en van KÜSSNER behandeld, nagewerkt en gecritiseerd. Geen van beide methoden bleek aan de verwachtingen te voldoen. De methode van KUHN en SCHÄFER geeft een niet te tolereeren verlies, zoowel aan scopolamine als aan atropine-hyoscyamine, terwijl de methode van KÜSSNER, waarbij apoatropine, belladonnine, hyoscyamine, atropine en scopolamine quantitatief worden bepaald, op de volgende punten gewijzigd werd:

1. De extractie van de alkaloiden met behulp van methyleen-chloride en natriumcarbonaat werd veranderd in een uitschudmethode met aether en ammonia; een maceratie-tijd van een half uur en een verhouding tusschen grondstof en uitschudvloeistof van 1 : 10 gaf de beste uitkomsten.
2. De bromometrische titratie van apoatropine werd vervangen door de spectrografische bepalingswijze.
3. Door het polarimetrisch en spectrografisch onderzoek en door het onderzoek via het goudzout werd aangetoond, dat het volgens KÜSSNER bepaalde amorphe alkaloide grootendeels uit hyoscyamine bestaat. Bij het verder onderzoek werd aan het amorphe alkaloide dan ook geen aandacht besteed.
4. Het atropine-hyoscyamine-kristallisaat werd niet met behulp van silicagel, maar eenvoudig bij een temperatuur van 50—60° gedroogd en het hyoscyamine in zoutzure oplossing, in een polarimeterbuis met vernauwd lumen, gepolariseerd. De nauwkeurigheid van de bepaling werd op deze wijze veelvoudig opgevoerd.
5. Voor scopolamine werd de in hoofdstuk IV gegeven quantitatieve bepaling, door middel van het smeltpunt van het goudzout, gevolgd.

Voordat de gewijzigde methode-KÜSSNER kon worden toegepast op het ter beschikking staande plantenmateriaal, waren nog verschillende aanvullingen betreffende de bepaling van het optisch actieve alkaloiden en die van het totaal-alkaloidengehalte door titratie noodzakelijk, waarvan de resultaten eveneens zijn verwerkt in een eigen analysemethode, die, met een voorbeeld van

een analyse van *Radix Belladonnae*, in hoofdstuk VIII is beschreven. Met deze methode worden het totaal-alkaloidengehalte, het gehalte aan optisch actieve alkaloiden, het gehalte aan hyoscyamine en scopolamine afzonderlijk, alsmede atropine en apoatropine quantitatief bepaald.

Negentien wortel- en veertien bladmonsters werden zoo onderzocht¹⁾. Zooals uit het overzicht van de verspreiding van *Atropa Belladonna* blijkt (hoofdstuk I), waren de meeste groeiplaatsen van de plant bij deze monsters vertegenwoordigd en vormden ze ook wat uiterlijk, ouderdom, al of niet gecultiveerd zijn e.d. betreft, een bonte verscheidenheid. Toch liepen de analyseresultaten van al deze soorten onderling, een enkele uitzondering daar gelaten, slechts weinig uiteen.

Op geenerlei wijze bleek er verband te kunnen worden gelegd tusschen de groeiplaats en het alkaloidengehalte. Alleen het uiterlijk, waarschijnlijk ten gevolge van de behandeling na het oogsten, was van geringen invloed op de verhouding der alkaloiden: in het algemeen daalde het hyoscyaminegehalte en steeg het gehalte aan apoatropine met het verminderen van de uiterlijke qualiteit van de grondstof. Deze variatie bedroeg, wanneer het alkaloidengehalte als percentage van het totaal werd uitgedrukt, slechts enkele procenten.

Geldt het voorgaande zoowel voor de wortels als voor de bladen, een verschilpunt tusschen beide vormt het gehalte aan scopolamine, dat bij de onderzochte bladmonsters, behoudens een uitzondering van 10 pCt., schommelde tusschen 2,5 en 5,5 pCt. In de *Folia Belladonnae* kon dit alkaloiide steeds worden aangetoond, in de wortels enkele malen in zeer geringe hoeveelheden (0,5 pCt. van het totaal-alkaloide). Een Amerikaansche wortel en twee van de vier Bulgaarsche wortels vormden met 2, 2,5 en 1 pCt. uitzonderingen op den regel,

Wil men tenslotte getallen, om een indruk van de onderlinge verhouding der alkaloiden te krijgen, het gemiddelde van de percentages van de afzonderlijke alkaloiden, weer uitgedrukt in procenten van het totaal-alkaloide, bedroeg voor zeventien monsters *Radix* (nos. 7 en 8 waren identiek en no. 14 viel geheel uit den toon) en veertien monsters *Folia Belladonnae*:

1) Zie pag. 104 en 105.

	Rad. Belladonnae	Fol. Belladonnae
Totaal optisch actief alkaloide . .	90,5 pCt.	91 pCt.
Hyoscyamine.	90 „	86,5 „
Scopolamine	0,5 „	4,5 „
Apoatropine	2,5 „	3 „
Atropine.	4 „	6 „
Restalkaloide.	3 „	— „

SUMMARY

The motives for the writing of this thesis: the application in medicine of the Bulgarian belladonna cure and its aim: to try to find out if the quantitative ratio of the alkaloids in roots and leaves of *Atropa Belladonna* varies with the growing place of the plant are exposed in the Introduction.

Chapter I gives a description of the growing places of *Belladonna* in connection with the material examined, and is followed in chapter II by a survey of the active elements in *Belladonna*.

The examination of *Belladonnae Radix* and *Folia* is discussed in chapters III to VIII, mainly founded on analyses with pure alkaloids, elaborated with quantitative determinations made on the plant itself.

Chapter VIII gives the prescription of our own method of analysis by which finally a number of roots and leaf samples of different origin were examined. The results of this examination are given in the last chapter (IX).

The analytical part of the thesis begins with a summary of the examinations made before of the *Solanaceae* and especially of *Atropa Belladonna* in so far as they refer to the various alkaloids occurring in the plant (chapter III). One of these examinations, which proved for the first time the existance of hyoscyamine in *Belladonna*, was elaborated for hyoscyne into a method by which this alkaloid in the course of the further examination could be sufficiently accurately determined, quantitatively as well as qualitatively (chapter IV).

Next a spectrographic analysis was made of the alkaloids (chapter V). Spectrograms were made of atropine, hyoscyamine, hyoscyne, apoatropine and belladonnine, all preparations of Merck, as well as of the total alkaloids from *Belladonnae Radix* and *Folia*. Only apoatropine was found to be suitable for the quantitative spectrographic analysis.

In chapters VI and VII the methods of analysis of KUH₂N and

SCHÄFER and of KÜSSNER are dealt with, elaborated and criticised. Neither of these methods came up to our expectations. The method of KUHN and SCHÄFER gives an inadmissible loss of hyoscine as well as atropine-hyoscyamine, while KÜSSNER's method, by which apoatropine, belladonnine, hyoscyamine, atropine and hyoscine were determined quantitatively, was altered in the following, respects:

1. The extraction of the alkaloids with Methylen Chloride and Sodium Carbonate was changed into a method of shaking out with ether and ammonia; half an hour of maceration and a relation of 1 to 10 between the drug and the shaking-liquid gave the best results.
2. The bromometric titration of apoatropine was replaced by the spectrographic method of analysis.
3. By the polarimetric and spectrographic examinations and by the examination by means of the gold-salt it was proved that the amorphous alkaloid determined by KÜSSNER consists mainly of hyoscyamine. Therefore no attention was paid to this alkaloid in further examinations.
4. The crystallisation of atropine-hyoscyamine was not dried with silicagel but simply at a temperature of 50—60° C. and hyoscyamine was polarised in a hydrochloric acid solution, using a narrowed polarimeter tube. The exactness of the determination was in this way greatly enhanced.
5. The quantitative determination by means of the melting-point of the gold-salts, described in chapter IV, was used for hyoscine.

Before the altered KÜSSNER method could be applied on the plants available, various corrections as to the determination of the optically active alkaloids and of the total-alkaloid's percentage by titration were necessary. The results of that have also been elaborated into a method of analysis of our own, which is described in chapter VIII with an example of an analysis of *Belladonnae Radix*. By this method the total percentage of alkaloids, the percentage of optically active alkaloids, the percentage of hyoscyamine and hyoscine separately, as well as atropine and apoatropine are determined quantitatively.

In this way nineteen roots and fourteen leaf samples were

examined.¹⁾ Most growing places of the plant were represented in these samples, as will be evident from the survey of the distribution of *Belladonna* in chapter I. As regards outward appearance, age and cultivation they also showed a great variety. Yet the results of the analysis of all these kinds diverged little with a single exception.

It proved to be impossible to find a relation between the growing-place and the alkaloid-percentage. Only the outward appearance had a slight influence on the ration of alkaloids, probably owing to the treatment after reaping: on the whole the hyoscyamine-percentage decreased and the apoatropine-percentage increased with the reduction of the outward quality of the drug. This variation only amounted to a few percents, the alkaloid percentage being expressed as a percentage of the total alkaloid.

The preceding holds good for the roots as well as for the leaves, but these two differ in their percentage of hyoscyne, which — with an exception of 10 percent — varied between 2,5 and 5,5 percent in the leaf samples examined. This alkaloid could always be shown in *Belladonnae Folia*, in the roots sometimes in very small quantities (0,5 percent of the total-alkaloid). An American root and two of the four Bulgarian roots were an exception to the rule with 2, 2,5 and 1 percent.

To get an impression of the mutual relation of the alkaloids, the average of the percentages of the different alkaloids, expressed in percentages of the total-alkaloids for seventeen samples of *Belladonnae Radix* (number 5 and 6 were identical and number 4 was completely different) and for fourteen samples of *Belladonnae Folia* can be given as follows:

	B llad. Radix	Bellad. Folia
Total optically active alkaloid . .	90,5 percent	91 percent
Hyoscyamine.	90 „	86,5 „
Hyoscyne.	0,5 „	4,5 „
Apoatropine	2,5 „	3 „
Atropine.	4 „	6 „
Rest-alkaloid	3 „	— „

1) See p. 104 and 105.

RADIN BELLADONNAE

Anal. nr.	Land van herkomst	Percentage in de droge grondstof						Percentage van het „totaal getitreerd” 2)						Vochtgehalte in pCt.	Anal. nr.		
		totaal gewogen	totaal getitr.	totaal opt. act. 1)	hyosc.	scopol.	apoatr.	atrop.	rest. alkal.	totaal opt. act.	hyosc.	scopol.	apoatr.			atrop.	rest. alkal.
1	Nederland (Noord-wijk)	0,250	0,245	0,222	0,222	0,000	0,009	0,008	0,006	91	91	0	4	3	2	7,0	1
2	Nederland (Den Dolder)	0,527	0,523	0,466	0,466	0,000	0,010	0,020	0,027	89	89	0	2	4	5	7,8	2
3	Frankrijk (Milly)	0,365	0,360	0,328	0,327	0,001	0,006	0,026	0,000	91	90,5	0,5	2	7	0	8,4	3
4	Frankrijk (Mass. Centr.)	0,503	0,493	0,443	0,443	0,000	0,053	0,044		90	90	0	11	9		9,8	4
5	Italië	1,030	1,011	0,883	0,882	0,001	0,037	0,045	0,046	87,5	87,5	0 ³⁾	3,5	4,5	4,5	7,6	5
6	Italië	1,020	1,009	0,884	0,883	0,001	0,035	0,047	0,043	87,5	87,5	0 ³⁾	3,5	4,5	4,5	7,7	6
7	Italië	?	0,756	0,651	0,651	0,000	0,028	0,036	0,041	86	86	0	3,5	5	5,5	7,0	7
8	Italië	?	0,658	0,575	0,575	0,000	0,023	0,033	0,027	87,5	87,5	0	3,5	5	4	8,0	8
9	Duitschland	0,535	0,533	0,473	0,471	0,002	0,014	0,031	0,015	88,5	88	0,5	2,5	6	3	6,6	9
10	Tsjechoslowakije	?	0,788	0,715	0,714	0,001	0,012	0,024	0,037	91	91	0 ³⁾	1,5	3	4,5	9,4	10
11	Polen	0,770	0,763	0,699	0,698	0,001	0,009	0,029	0,026	91,5	91,5	0 ³⁾	1	4	3,5	9,6	11
12	Roemenië	0,564	0,564	0,511	0,511	0,000	0,009	0,027	0,017	90,5	90,5	0	1,5	5	3	8,6	12
13	Joegoslavië	0,660	0,655	0,600	0,600	0,000	0,012	0,019	0,024	91,5	91,5	0	2	3	3,5	8,4	13
14	Joegoslavië	0,445	0,444	0,425	0,425	0,000	0,011	0,008	0,000	95,5	95,5	0	2,5	2	0	9,7	14
15	Bulgarije	0,660	0,651	0,605	0,604	0,001	0,014	0,024	0,008	93	93	0 ³⁾	2	4	1	9,1	15
16	Bulgarije	0,616	0,610	0,574	0,574	0,000	0,014	0,016	0,006	94	94	0	2	3	1	7,5	16
17	Bulgarije	0,430	0,429	0,391	0,380	0,011	0,008	0,019	0,011	91,5	89	2,5	2	4	2,5	8,4	17
18	Bulgarije	0,464	0,460	0,425	0,421	0,004	0,011	0,012	0,012	92,5	91,5	1	2,5	2,5	2,5	10,4	18
19	Amerika	0,470	0,467	0,406	0,397	0,009	0,009	0,013	0,039	87	85	2	2	2,5	8,5	8,4	19

1) Berekend als hyoscyamine (vgl. pag. 70).

2) De getallen zijn afgerond tot op 0,5 pCt.

3) De hoeveelheid scopolamine was te gering om in procenten van het totaal te kunnen worden uitgedrukt.

Anal. nr.	Land van herkomst	Percentage in de droge grondstof								Percentage van het „totaal kristallijn” 2)					Anal. nr.
		totaal ge- wogen	totaal getitr.	totaal opt. act. 1)	hyosc.	scopol.	apoatr.	atrop.	totaal krist.	totaal opt. act.	hyosc.	scopol.	apoatr.	atrop.	
20	Nederland (Noord- wijk, Juli '38).	0,440	0,409	0,394	0,379	0,015	0,010	0,035	0,439	89,5	86	3,5	2,5	8	20
21	Nederland (Noord- wijk, Sept. '38)	0,421	0,375	0,381	0,360	0,021	0,009	0,026	0,416	91,5	86,5	5	2,5	6	21
22	Nederland(Buiten- post, Aug. '39)	0,287	0,276	0,275	0,267	0,008	0,010	0,010	0,295	93	90,5	2,5	3,5	3,5	22
23	Nederland(Buiten- post, Sept. '39)	0,299	0,287	0,287	0,275	0,012	0,009	0,015	0,309	93,5	89,5	4	2,5	4	23
24	Engeland (no. 1)	0,215	0,198	0,190	0,180	0,010	0,007	0,014	0,211	90	85,5	4,5	3,5	6,5	24
25	Engeland (no. 2)	?	0,355	0,344	0,326	0,018	0,009	0,022	0,375	92	87	5	2	6	25
26	Frankrijk (Miliv)	0,425	0,400	0,383	0,366	0,017	0,007	0,018	0,408	93,5	89,5	4	2	4,5	26
27	Frankrijk (Mass Centr.)	0,287	0,265	0,247	0,231	0,016	0,017	0,021	0,285	87	81,5	5,5	6	7	27
28	Duitschland (N. Harz).	0,289	0,266	0,250	0,235	0,015	0,006	0,015	0,271	92,5	87	5,5	2	5,5	28
29	Duitschland	0,568	0,560	0,551	0,547	0,004	0,012	0,005	0,568	97	96	1	2	1	29
30	Tsjechoslowakije	?	0,334	0,315	0,295	0,020	0,017	0,026	0,358	88	82,5	5,5	5	7	30
31	Tsjechoslowakije (Roethenië)	?	—	0,151	0,145	0,006	0,010	0,017	0,178	85	81,5	3,5	5,5	9,5	31
32	Rusland	0,230	0,209	0,208	0,184	0,024	0,009	0,023	0,240	86,5	76,5	10	3,5	10	32
33	Rusland	0,582	0,557	0,506	0,489	0,017	0,013	0,019	0,538	94	91	3	2,5	3,5	33

1) Berekend als hyoscyamine (vgl. pag. 70).

2) De getallen zijn afgerond tot op 0,5 pCt.

STELLINGEN

I

Voor een juiste beoordeeling van pharmaceutische grondstoffen en galenische praeparaten dienen, behalve het meest werkzame bestanddeel of meerdere werkzame bestanddeelen tezamen, ook de bijbestanddeelen zooveel mogelijk quantitatief te worden bepaald.

II

De door KUHN en SCHÄFER, in hun publicatie over de alkaloiden van *Atropa Belladonna*, gegeven analysecijfers zijn onjuist.

D. Apoth. Ztg. **53**, 405, 424 (1938).

III

De identiteit van het vroeger door verschillende auteurs uit *Atropa Belladonna* geïsoleerde belladonnine is door het onderzoek van KÜSSNER niet vast komen te staan.

Arch. Pharm. **276**, 617 (1938).

IV

De beslistheid, waarmee de Nederlandsche Pharmacopee Ed. V, bij de beschrijving der plantaardige simplicia, een bepaalde stamplant eischt, is niet altijd gerechtvaardigd.

V

De Nederlandsche Pharmacopee Ed. V geeft voor Tannalbuminum een methode van onderzoek, die geen maatstaf vormt voor de bruikbaarheid van dit praeparaat.

N. J. A. GROEN

VI

De quantitatieve bepaling van de sulfonamiden door diazoteering met een gestelde oplossing van natriumnitriet, is te verkiezen boven de bromometrische titratie volgens WOJAHN.

Arch. Pharm. **9**, 124, 289 (1943).

VII

Het is gewenscht, de gravimetrische bepalingwijze van het alkalöide in Semen en Tinctura Colchici te vervangen door een polarimetrische.

Ann. Pharm. fr. **6**, 152 (1944).

VIII

Dolantine moet tot de verslavingsvergiften, welke onder de bepalingen van de Opiumwet vallen, worden gerekend.

IX

In een volgende editie van de Nederlandsche Pharmacopee dient de quantitatieve bepaling van ferro bij aanwezigheid van organische stof langs cerimetrischen weg te geschieden.

Pharm. Wbl. **81**, 61 (1946).

